



Escola de Camins
Escola Tècnica Superior d'Enginyeria de Camins, Canals i Ports
UPC BARCELONATECH

Explorando el uso de señales químicas en la biodegradación de contaminantes emergentes en aguas residuales

Trabajo realizado por: **Eva Larzabal Aperribay**

Dirigido por: **Víctor Matamoros (IDAEA-CSIC)**

Tutor: **Jaume Puigagut**

Máster en: **Ingeniería Ambiental**

Barcelona, 14 de junio de 2019

Departamento de Ingeniería Civil y Ambiental

TRABAJO FINAL DE MÁSTER

Este trabajo ha sido realizado en el Departamento de Química Ambiental del Instituto de Diagnóstico Ambiental y Estudios del Agua.



Resumen

La presencia de contaminantes emergentes (fármacos, detergentes, anticorrosivos...) en el medio acuático, debido a que las estaciones depuradoras de aguas residuales no han sido diseñadas para eliminarlos, ha provocado una alarma científica y social. En este sentido, se han desarrollado nuevas tecnologías de tratamiento (oxidación avanzada o membranas), pero estas han resultado ser muy costosas, tanto desde el punto de vista de construcción, como de explotación. Por lo tanto, es necesaria una tecnología innovadora capaz de degradar dichos contaminantes de manera sostenible.

En estudios anteriores se ha observado que los humedales construidos son capaces de eliminar gran parte de estos contaminantes emergentes. No obstante, tienen la desventaja de requerir mucha área superficial, además de las condiciones necesarias para el crecimiento de las plantas. Este trabajo final de máster tiene como objetivo evaluar el uso de señales químicas procedentes de exudados de plantas con el fin de incrementar la biodegradación de contaminantes emergentes en aguas residuales mediante biofiltros de arena. La gran novedad radica en no depender de las plantas y reducir así el área superficial requerida normalmente por los humedales construidos. Para poder llevar a cabo este estudio se ha creado un sistema de doce filtros de arena en el que, a través de la adición de tres exudados (arginina, glucosa y ácido salicílico), se ha evaluado su efecto en la eliminación de cinco contaminantes emergentes (benzotriazol, sulfametoxazol, carbamazepina, naproxeno y diclofenaco).

La eliminación de los contaminantes estudiados a lo largo del periodo de muestreo ha presentado evoluciones muy variables en función del exudado o combinación de exudados adicionados. Sin embargo, en general, la presencia de exudados ha supuesto un incremento en la degradación de los contaminantes seleccionados.

La adición de exudados en sistemas de biofiltros ha demostrado ser una tecnología adecuada para el tratamiento de contaminantes emergentes de las aguas residuales, ya que ha obtenido tasas de eliminación similares a las conseguidas en otros sistemas como, por ejemplo, humedales construidos plantados.

Palabras clave: contaminante emergente, eliminación, exudado.

Abstract

Wastewater treatment plants have not been designed to eliminate emerging pollutants (drugs, detergents, anticorrosive agents...). New treatment technologies have been developed (advanced oxidation or membranes) but these have turned out to be very expensive to build and operate. Therefore, it is required an innovative technology which is able of degrading these pollutants in a sustainable way.

In previous studies, it has been observed that constructed wetlands are capable of removing emerging pollutants from wastewater, but they have the disadvantage of requiring a high surface area and suitable conditions for plants to grow. This master's thesis aims to evaluate the use of chemical signals from plant exudates to increase the biodegradation of emerging pollutants from wastewater. The novelty of this study deals on being able to simulate the constructed wetlands' condition in a bio filter system with the intention of reducing the required surface area. In order to carry out this study, the effect of three exudates (arginine, glucose and salicylic acid) on the elimination of five emerging contaminants (benzotriazole, sulfamethoxazole, carbamazepine, naproxen and diclofenac) has been evaluated in twelve sand bio filter columns.

During the sampling period, contaminants' elimination showed very fluctuating evolutions depending on the exudate or combination of exudates injected into the system. However, in general all the studied conditions have led to an increase in the degradation of the selected contaminants.

This treatment system involving sand filters and the addition of exudates has proved to be an appropriate technology for the treatment of emerging contaminants from wastewater. It has reached similar elimination rates to those achieved in other systems such as planted constructed wetlands.

Keywords: emerging pollutant, removal, exudate

Agradecimientos

Primero, me gustaría agradecer a mis dos tutores del Trabajo Final de Máster, Jaume Puigagut y Víctor Matamoros, por hacer posible la realización de este trabajo. En especial, gracias a Víctor por haberme dado la oportunidad de realizar el trabajo en tu grupo de investigación del CSIC y por confiar en mí desde el principio, sin tu ayuda no podría haber llegado hasta aquí.

También quiero agradecer a todos los compañeros del CSIC, por haberme hecho sentir parte del grupo desde el principio y por todas las horas de “tupper” que hemos compartido. Gracias a Anna, Yolanda, Néstor, Edu, Carmen, Sandra, Dorde, Sergi, Marta, Gerlane y Siday.

A todas las personas con las que he compartido estos dos años de mi vida en Barcelona, tanto en el máster como fuera de él. Gracias por los momentos vividos, por las comidas, las cenas, las risas, las alegrías...

Por supuesto, gracias a Iñaki por sufrir todas mis alegrías y penurias, por acompañarme a lo largo de estos años y por el apoyo constante.

Por último, quiero agradecer especialmente a la familia. A pesar de estar a muchos kilómetros, vuestros ánimos diarios han sido imprescindibles para poder acabar este trabajo.

Índice

1.	Introducción	9
1.1.	Contexto actual	9
1.2.	Contaminantes emergentes.....	10
1.2.1.	Presencia de contaminantes emergentes en aguas.....	11
1.2.2.	Efectos toxicológicos	13
1.2.3.	Contaminantes estudiados.....	14
1.2.4.	Propiedades físico-químicas.....	16
1.2.5.	Legislación en materia de medio ambiente	21
1.3.	Medidas para la mitigación de contaminantes emergentes.....	22
1.3.1.	Fitorremediación - exudados	23
1.3.2.	Filtración lenta de arena	24
2.	Objetivos e hipótesis del trabajo.....	26
3.	Material y métodos	27
3.1.	Reactivos y productos químicos.....	27
3.2.	Metodología analítica.....	27
3.3.	Diseño experimental	30
3.4.	Análisis estadístico	33
4.	Resultados y discusión	34
4.1.	Efecto individual de los exudados	34
4.2.	Efecto combinado de los exudados	37
4.3.	Discusión	41
5.	Conclusiones.....	45
6.	Recomendaciones / trabajos futuros	46
7.	Bibliografía	47

Índice de tablas

Tabla 1. Presencia de los contaminantes emergentes estudiados en el medio acuático.....	15
Tabla 2. Solubilidad de los contaminantes emergentes	17
Tabla 3. Polaridad de los contaminantes emergentes.....	18
Tabla 4. Movilidad de los contaminantes emergentes	19
Tabla 5. Propiedades físico-químicas de los contaminantes de estudio	20
Tabla 6. Composición del gradiente de la fase móvil.....	28
Tabla 7. Tiempo de retención (TR), longitud de onda, LOD, LOQ, recuperación, repetividad y linealidad	29
Tabla 8. Lista de las condiciones evaluadas	33
Tabla 9. Valores promedio de la eliminación de los CE tras la adición de exudados individualmente	34
Tabla 10. Valores promedio de la eliminación de los CE tras la adición combinada de exudados	37

Índice de figuras

Figura 1. Mapa físico y económico de la escasez de agua a nivel mundial ^[1]	9
Figura 2. Ciclo de los contaminantes emergentes en el agua. ^[8]	12
Figura 3. Destino de los contaminantes en el medio acuático. ^[8]	13
Figura 4. UHPLC empleado para la determinación de las concentraciones de los CE	28
Figura 5. Cromatograma de un patrón de la recta de calibrado. Contaminantes determinados mediante UHPLC 1-Benzotriazol, 2-Sulfametoxazol, 3-Sulfametoxine, 4-Carbamazepina, 5-Naproxeno, 6-Diclofenaco (250 µg/L).....	29
Figura 6. Diseño experimental del sistema de tratamiento de agua, fase inicial	30
Figura 7. Diseño experimental del sistema de tratamiento del agua	31
Figura 8. Distribución de las columnas y sus respectivos tratamientos (1)	32
Figura 9. Distribución de las columnas y sus respectivos tratamientos (2)	32
Figura 10. Evolución temporal de la eliminación de los CE tras la inyección de exudados individualmente	35
Figura 11. Evolución temporal de la eliminación de los CE tras la inyección de exudados combinados.....	38
Figura 12. Evolución temporal de la eliminación de los CE tras la inyección de exudados combinados y diluidos.....	40

Índice de ecuaciones

Ecuación 1. Coeficiente de reparto octanol/agua (K_{ow})	17
Ecuación 2. Constante de la ley de Henry (H)	18
Ecuación 3. Constante de disociación ácida (pK_a)	18
Ecuación 4. Ratio de reparto octanol/agua para ácidos (Dow)	19
Ecuación 5. Ratio de reparto octanol/agua para bases (Dow)	19
Ecuación 6. Eliminación de contaminantes	33

Acrónimos

CE: Contaminante emergente

CV: Coeficiente de variación

CW: Humedal construido

DMA: Directiva Marco del Agua

Dow: Coeficiente de distribución octanol/agua

EDAR: Estación depuradora de aguas residuales

H: Constante de la ley de Henry

HLR: Carga hidráulica

HRT: Tiempo de residencia hidráulico

Kow: Coeficiente de reparto octanol/agua

LOD: Límite de detección

LOQ: Límite de cuantificación

NCA: Normas de Calidad Ambiental

pKa: Constante de disociación ácida

PM: Peso molecular

PPCP: Productos farmacéuticos y de cuidado personal

PS: Contaminante prioritario

S: Solubilidad en agua

SSF: Filtración lenta de arena

TR: Tiempo de retención

UE: Unión Europea

UHPLC: Cromatografía líquida de ultra alta resolución

1. Introducción

1.1. Contexto actual

El agua está presente en todos los aspectos de la vida en la Tierra, ya que es un componente esencial de nuestras vidas. Sin embargo, la escasez de agua es uno de los grandes retos que la humanidad debe afrontar como consecuencia del cambio climático. En la actualidad el estrés hídrico afecta a casi todos los continentes y a más del 40% de la población mundial. Tal y como indica el Informe de las Naciones Unidas Sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos en el Mundo, Agua y Empleo ^[1], la escasez de agua es el resultado de diversas causas, pudiendo considerar tres dimensiones de la misma: escasez de agua física, debido a una falta de recursos hídricos; escasez de agua económica, debido a una falta de infraestructura por limitaciones financieras o técnicas; y escasez de agua institucional, debido a ineficiencia de las instituciones para proveer al usuario con un suministro de agua confiable, seguro y equitativo ^[2]. La *Figura 1* muestra la distribución mundial de la escasez física y económica de agua.

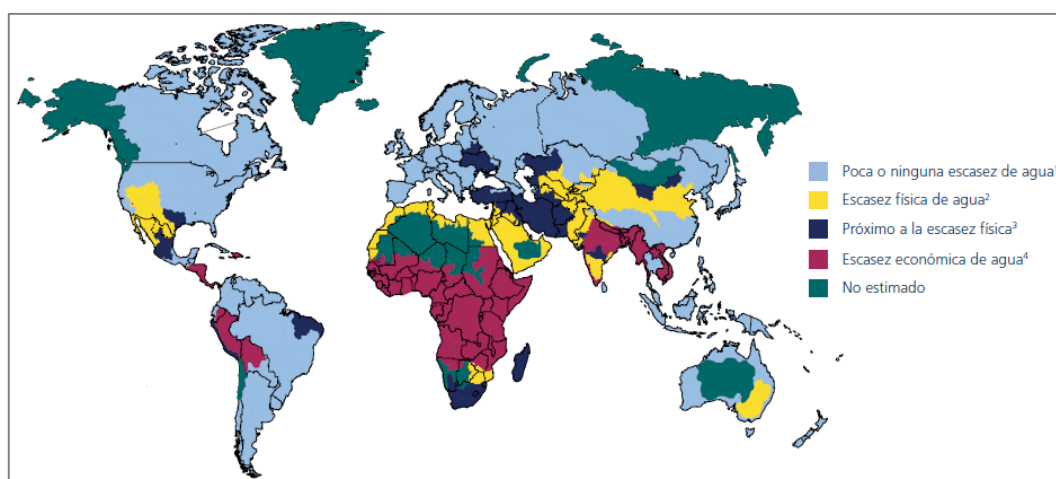


Figura 1. Mapa físico y económico de la escasez de agua a nivel mundial ^[1]

Para poder interpretar la anterior imagen se debe entender la leyenda de la siguiente manera:

- Poca o ninguna escasez de agua: recursos hídricos abundantes en relación al uso, con menos del 25% de agua de río extraída para fines humanos.
- Escasez física de agua: el desarrollo de recursos hídricos se encuentra próximo o ha excedido los límites sostenibles y más del 75% de los caudales de ríos son extraídos para la agricultura, industria y fines domésticos (incluyendo el reciclaje y caudales de retorno).

- Próximo a la escasez física: más del 60% de los caudales de río son extraídos y estas cuencas sufrirán escasez física de agua en un futuro próximo.
- Escasez económica de agua: los recursos hídricos son abundantes en relación al uso del agua, con menos del 25% de agua extraída de ríos para fines humanos, sin embargo, aún existe desnutrición.

El uso del agua ha ido aumentando en todo el mundo aproximadamente un 1% por año desde la década de 1980 y se espera que la demanda global de agua continúe aumentando a un ritmo similar hasta 2050, con un aumento del 20-30% por encima del nivel actual de uso del agua ^[3]. Este crecimiento ha sido impulsado por una combinación de crecimiento poblacional, desarrollo socioeconómico y patrones de consumo en evolución. Asimismo, dicho crecimiento conlleva una mayor producción de aguas residuales industriales, urbanas y agrícolas. Cada día se liberan alrededor de 2 millones de toneladas de desechos, provenientes de industrias (p. ej. compuestos sintéticos), actividades humanas (p.ej. fármacos) y agrícolas (p. ej. fertilizantes y pesticidas) ^[4].

La disponibilidad del agua también depende en gran medida de su calidad. La calidad del agua está intrínsecamente relacionada con la preservación de los ecosistemas, la inocuidad de los alimentos, la salud humana, la reducción de la pobreza y otros factores como el crecimiento económico y el desarrollo social. Por lo tanto, mantener la calidad global del agua es un requisito para el progreso sostenible, para satisfacer los requisitos de los ecosistemas y garantizar el bienestar general de los seres humanos ^[5]. No obstante, en los últimos años han surgido una serie de compuestos en el medio acuático, llamados contaminantes emergentes (CE), que afectan a su calidad.

1.2. Contaminantes emergentes

A día de hoy, NORMAN Network (red de laboratorios de referencia, centros de investigación y organizaciones afines para el control de sustancias emergentes en el medio ambiente) ha identificado más de 1.000 sustancias emergentes o CE. Los CE pueden definirse como compuestos que actualmente no están incluidos en los programas de monitoreo de rutina a nivel europeo, pero pueden ser candidatos para futuras regulaciones, dependiendo de la investigación sobre su (eco)toxicidad, los posibles efectos en la salud, la percepción pública y el monitoreo de datos en relación con los distintos compartimentos medioambientales. Dichas sustancias no son necesariamente productos químicos nuevos, es decir, son sustancias que a menudo han estado presentes en el medio ambiente pero cuya presencia e importancia está siendo ahora estudiada ^[6].

En algunos casos, la liberación de CE en el medio ambiente probablemente se haya producido durante mucho tiempo, pero es posible que no se haya reconocido hasta que se hayan desarrollado nuevos métodos de detección. En otros casos, la síntesis de nuevos productos químicos o los cambios en el uso y eliminación de los productos químicos existentes pueden haber creado nuevas fuentes de CE.

Actualmente, la presencia de CE ha ganado conciencia ya que son compuestos que se usan diariamente en grandes cantidades e incluyen una amplia variedad de compuestos tales como productos farmacéuticos, productos para el cuidado personal, plastificantes, retardantes de llama, pesticidas, etc.

Uno de los grupos de CE con mayor preocupación son los productos farmacéuticos y de cuidado personal (PPCP, del inglés *pharmaceuticals and personal care products*). Un gran volumen de productos farmacéuticos es utilizado para la prevención, diagnóstico y tratamiento de enfermedades tanto en humanos como en animales. El consumo medio per cápita de productos farmacéuticos por año en todo el mundo se estima en alrededor de 15 g y en los países industrializados se espera que el valor esté entre 50 y 150 g ^[7]. La mayoría de los productos farmacéuticos no se degradan completamente después de su aplicación. Como resultado, los metabolitos y algunas formas inalteradas de estos compuestos se excretan y posteriormente ingresan en el ecosistema. En la última década, los investigadores han detectado una multitud de productos farmacéuticos en el medio acuático. Esta detección ha sido posible gracias a los avances en el desarrollo de nuevas tecnologías analíticas, que permiten detectar contaminantes a nivel de ng/L o inferiores ^[7].

1.2.1. Presencia de contaminantes emergentes en aguas

La principal fuente de CE son las aguas residuales de origen urbano, industrial y agrícola (*Figura 2*). Los residuos farmacéuticos son transportados en el agua por distintas rutas. Las estaciones depuradoras de aguas residuales (EDAR) actúan como puerta de entrada para que los productos farmacéuticos de origen humano lleguen al medio acuático, mientras que la mayoría de los residuos de productos farmacéuticos veterinarios se descargan directamente en el medio ambiente a través de la fertilización agrícola.

Las EDAR municipales están diseñadas principalmente para eliminar patógenos y materia en suspensión o floculada, pero no microcontaminantes como, por ejemplo, los CE. Desde los años 80 se ha impulsado el desarrollo de nuevas tecnologías de tratamiento como, por ejemplo, membranas bióticas y abióticas, oxidación y reducción avanzadas, tratamientos

electroquímicos, procesos combinados, etc. Sin embargo, las EDAR suelen utilizar un tratamiento biológico secundario de lodos activados convencionales, que sólo elimina una fracción de los CE.

Los CE más alarmantes en el medio acuático son los compuestos polares persistentes de alta solubilidad en agua, ya que son capaces de penetrar a través de diversos tratamientos de las EDAR y filtros naturales.

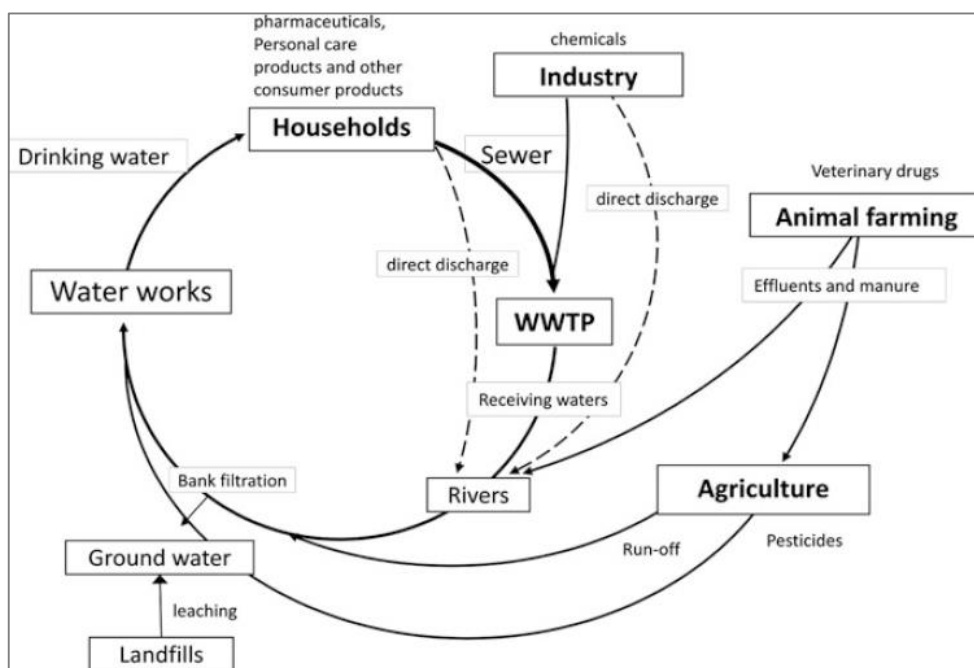


Figura 2. Ciclo de los contaminantes emergentes en el agua. [8]

El transporte de los CE en el agua depende en gran medida de sus propiedades, como la volatilidad, la polaridad, las propiedades de adsorción y la persistencia. Dichos compuestos son descargados desde las EDAR urbanas e industriales directamente a los ríos, donde su destino ambiental es preocupante debido a su absorción en el sedimento y/o transporte en la fase acuosa.

Los CE pueden experimentar una importante biodegradación y transformación en las aguas superficiales y subterráneas impactadas por los efluentes. La biodegradación depende de la presencia de una comunidad de organismos capaces de transformar los contaminantes a través de redes metabólicas y de la biodisponibilidad de los contaminantes, especialmente en los sedimentos y el suelo. Una vez liberados al medio ambiente, una serie de procesos gobiernan el destino y el transporte de contaminantes. Los más importantes son los procesos físicos de dispersión y dilución, y los procesos químicos y biológicos, como la biodegradación, la oxidación e hidrólisis abiótica, la fotólisis, la adsorción/desorción y la volatilización (Figura 3).

La biodegradabilidad es considerada generalmente como la propiedad más importante para la evaluación del riesgo ambiental de los microcontaminantes orgánicos y depende en gran medida, a parte de la estructura química del compuesto en cuestión, de condiciones ambientales, como la temperatura, el potencial redox y las comunidades microbianas presentes. También es importante el grado de biodisponibilidad de un microcontaminante, es decir, la accesibilidad del compuesto a los microorganismos y su absorción por las células microbianas. Otros factores importantes que influyen en la biodegradación son el tiempo de exposición a la biomasa, la disponibilidad de co-sustratos y la fracción de materia inerte.

La interfaz entre el agua y los sólidos naturales (por ejemplo, las partículas en suspensión y los sedimentos de los ríos) desempeña un papel importante en el transporte de microcontaminantes en los sistemas fluviales. La adsorción depende tanto de las características de la superficie como de las propiedades del contaminante.

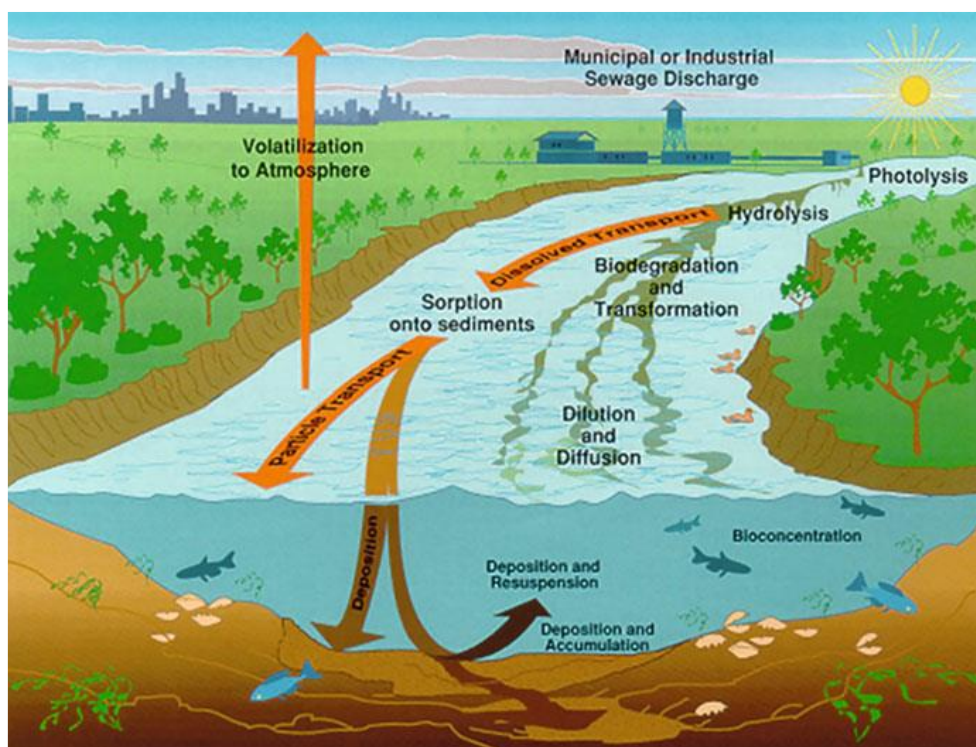


Figura 3. Destino de los contaminantes en el medio acuático. [8]

1.2.2. Efectos toxicológicos

La ubicuidad de los CE en el medio ambiente ha creado una gran preocupación entre los científicos debido a los posibles efectos toxicológicos que estas sustancias pueden tener sobre los ecosistemas y la salud pública. En los últimos años, numerosos estudios están evaluando los posibles efectos toxicológicos relacionados con la presencia de CE, principalmente en organismos acuáticos [9], así como la gestión del riesgo [10], con el fin de apoyar la toma de

decisiones por parte de las partes interesadas y, finalmente, la formulación de políticas. A pesar de que las concentraciones de CE que se detectan en el medio ambiente son a menudo muy bajas (oscilan entre ng/L y µg/L), y puede parecer que no suponen un riesgo apreciable para la salud humana, estos se liberan continuamente al medio ambiente, constituyendo los denominados contaminantes "pseudo-persistentes".

Aunque se conoce poco sobre la presencia y los efectos de los fármacos en el medio ambiente, el uso intenso e indebido de antibióticos ha aumentado y ha propagado la aparición de bacterias patógenas altamente resistentes. La mayor parte de la literatura publicada se basa en los efectos agudos de los fármacos sobre los organismos acuáticos y en las evaluaciones de peligros y riesgos, un enfoque a menudo no realista, dado que no se tiene en cuenta el efecto crónico^[9]. No obstante, existen evidencias científicas de efectos ecotoxicológicos de la presencia de CE en el medio acuático.

Por ejemplo, los peces pueden verse afectados por la presencia de diclofenaco en el medio acuático (0,5-1 µg/L), causando alteraciones en las branquias y el hígado ^[11]. De igual manera, se han estudiado los efectos negativos sobre la metamorfosis de la rana causada por el triclosán ^[12]. Por último, concentraciones de 5-6 ng/L de 17-Etinylestradiol (píldora anticonceptiva) en el medio acuático, han provocado la feminización de peces machos *Fathead minnow* ^[13].

Además, dado que los CE no están presentes solos en el medio ambiente, sino como mezclas multicomponentes, una predicción precisa de la toxicidad crónica de la mezcla es indispensable para una evaluación del riesgo medioambiental. Pueden ocurrir efectos tóxicos sinérgicos significativos a través de la exposición multicomponente; por lo tanto, no deben manejarse de forma aislada.

1.2.3. Contaminantes estudiados

Los CE objeto de estudio son el benzotriazol, la carbamazepina, el diclofenaco, el naproxeno y el sulfametoxazol. Estos compuestos han sido seleccionados debido a su elevada presencia en aguas superficiales, así como aguas residuales. Además, presentan una moderada o baja atenuación mediante sistemas de tratamiento convencional de lodos activados ^[14].

La *Tabla 1* muestra las concentraciones de los CE estudiados en aguas superficiales. Asimismo, incluye datos relacionados con la concentración de los CE tanto en el efluente como en el afluente de las EDAR y las eficiencias de eliminación después de haber sido tratados en las EDAR de lodos activados.

Tabla 1. Presencia de los contaminantes emergentes estudiados en el medio acuático. ^[14] ^[15] ^[16]

Contaminante	Afluente EDAR (ng/L)	Efluente EDAR (ng/L)	Eliminación (%)	Aguas superficiales (ng/L)
Benzotriazol	12000	700	37	400
Carbamazepina	27-860	ND-1429	7/18/0-60	20-595
Diclofenaco	86-580	ND-13,81·10 ³	69-75/29/21	29-156
Naproxeno	99-2,1·10 ⁵	ND-5433	45-66/73/66	33
Sulfametoxazol	70-4090	10-548	52/33/46	< LOD - 1488

ND, no detectado

Benzotriazol

El benzotriazol es un agente inhibidor de la corrosión que se usa comúnmente en refrigerantes de motor y líquidos anticongelantes, líquidos para deshielo y anticongelante de aeronaves y detergentes para lavavajillas, herbicidas y pesticidas ^[17]. Asimismo, estudios recientes han demostrado su presencia en el tejido adiposo, orina y muestras de líquido amniótico de humanos ^[18].

Es un compuesto heterocíclico de nitrógeno que es polar y altamente soluble en agua ^[17]. Varios artículos han demostrado que las aguas residuales son una vía importante para la transferencia de benzotriazol al medio ambiente ^[18], debido a su resistencia a la degradación y la eliminación limitada en EDAR ^[17].

Carbamazepina

La carbamazepina es un fármaco usado para el tratamiento de trastornos convulsivos, para el alivio de la neuralgia y para una amplia variedad de trastornos mentales. Aproximadamente el 72% de este fármaco administrado por vía oral es absorbido, mientras que el 28% no se modifica y posteriormente se descarga a través de las heces. Una vez que se absorbe, la CBZ es metabolizada por el hígado y los metabolitos de este fármaco son finalmente excretados por la orina ^[7]. Se trata de un compuesto que se encuentra comúnmente en los efluentes de EDAR (eliminación de aproximadamente el 10%) y se ha detectado en recursos hídricos en concentraciones que oscilan entre 2 y 3.090 ng/L ^[19]. Así, se ha propuesto como un marcador antropogénico en cuerpos de agua ^[7].

Diclofenaco

El diclofenaco es un medicamento antiinflamatorio no esteroideo que se usa para reducir la inflamación y para aliviar el dolor, y funciona como un analgésico en afecciones como la artritis o la lesión aguda. Asimismo, se puede utilizar para reducir el dolor menstrual, la dismenorrea. Aproximadamente el 65% de la dosis ingerida es excretada a través de la orina, en la que se han identificado seis metabolitos. Sin embargo, la cantidad real de metabolitos en las heces aún no está clara. La aplicación dérmica de diclofenaco podría resultar en mayores descargas de dicho contaminante en los ambientes acuáticos ^[7].

Naproxeno

El naproxeno es uno de los fármacos antiinflamatorios no esteroides más utilizados, conocido por sus propiedades inflamatorias, analgésicas y antipiréticas. Debido a su uso extensivo como medicamento sin receta, ha sido detectado en aguas superficiales, aguas subterráneas, aguas residuales e incluso en agua potable en el intervalo de ng/L a varios ug/L ^[20]. La alta frecuencia de detección y los altos niveles en el medio acuático se deben probablemente a la baja eficiencia de remoción (< 15%) de los tratamientos de aguas residuales ^[21].

Sulfametoxazol

El sulfametoxazol es prescrito con frecuencia en la medicina para tratar enfermedades respiratorias, urinarias y gastrointestinales ^[19] y es usado ampliamente en el tratamiento de enfermedades veterinarias y en la cría de ganado y aves ^[23]. Dicho fármaco ha sido detectado con frecuencia en aguas superficiales, aguas subterráneas y algunas EDAR ^[24]. Su eliminación mediante tratamientos convencionales de fangos activados es ineficiente, lo que genera una detección frecuente en el medio ambiente acuático ^[23]. Dicha prevalencia en los efluentes de las EDAR, ha generado una creciente preocupación por la propagación de la resistencia a los antibióticos.

1.2.4. Propiedades físico-químicas

Las propiedades físicas más importantes de los contaminantes son la solubilidad en agua, la acidez (pKa), la presión de vapor, la constante de la ley de Henry (H), la hidrofobicidad expresada como el coeficiente de reparto octanol/agua (Kow) y el coeficiente de reparto de carbono orgánico/agua (Koc).

Solubilidad en agua (S)

La solubilidad se define como la concentración máxima de un contaminante en equilibrio que se detectaría en aguas. Cuanto mayor es la solubilidad en agua, mayor es la tendencia a permanecer disuelto y, por lo tanto, menor es la probabilidad de volatilizarse del agua y permanecer en el medio acuático. Por otro lado, las sustancias poco solubles en agua se volatilizan más fácilmente en el agua, tienden a precipitarse, a adsorberse en el suelo y a bioconcentrarse en organismos acuáticos. La *Tabla 2* agrupa los contaminantes en función de su solubilidad en agua.

Tabla 2. Solubilidad de los contaminantes emergentes [25]

Valores de S (mg/L)	Solubilidad
$0,2 < S < 1$	Poco soluble o insoluble
$1 < S < 500$	Soluble
$500 < S < 850$	Muy soluble

Coeficiente de reparto octanol/agua (Kow)

El coeficiente de reparto octanol/agua determina la distribución de una sustancia química entre dos solventes inmiscibles, el agua como disolvente polar universal y el octanol como disolvente no polar. Asimismo, proporciona un valor de polaridad de un contaminante, necesario para determinar su distribución entre la fase lipídica y la fase acuosa de un organismo.

$$K_{ow} = \frac{\text{Concentración del contaminante disuelto en octanol}}{\text{Concentración del contaminante disuelto en agua}} \quad \text{Ecuación 1}$$

Los compuestos de baja polaridad, presentan elevada lipofilidad y son hidrofóbicos, lo que hace que tengan una elevada retención en la materia orgánica, sedimentos y/o biota. Por otro lado, los compuestos de elevada polaridad, presentan baja lipofilidad y son hidrofílicos, lo que indica que el contaminante no se retiene en la materia orgánica y tiende a movilizarse tanto en las aguas superficiales como subterráneas. La *Tabla 3* agrupa los contaminantes en función de su polaridad.

Tabla 3. Polaridad de los contaminantes emergentes [25]

Valores de log Kow	Polaridad
log Kow < 1,5	Compuesto polar
4 > log Kow > 1,5	Compuesto moderadamente polar
log Kow > 4	Compuesto no polar

Hoy en día, existe una preocupación especial por los contaminantes polares ya que son móviles en el ciclo del agua y debido a sus propiedades físico-químicas (solubilidad alta y generalmente poca degradación), son capaces de penetrar a través de diferentes tratamientos de aguas.

Ley de Henry

La ley de Henry determina la relación entre la presión y la solubilidad de un gas en un líquido y describe la tendencia de un contaminante a volatilizarse en el agua o en el suelo húmedo.

$$H = \frac{\text{Presión de vapor (mPa)} \cdot \text{Peso molecular (g/mol)} \cdot 10^{-3}}{\text{Solubilidad en agua (ppm)}} \quad \text{Ecuación 2}$$

Cuando un contaminante tiene una alta solubilidad en el agua en relación a su presión de vapor, el contaminante se solubiliza. De este modo, si el contaminante presenta valores elevados, indica que el potencial para volatilizarse en el suelo es elevado. Por otro lado, valores bajos predicen un mayor potencial de lixiviación del contaminante.

Constante de disociación ácida (pKa)

La constante de disociación determina la relación entre la forma ionizada y la forma neutra de un compuesto. Así, las sustancias con carácter ácido presentan una elevada movilidad en los suelos. Por otro lado, las sustancias con propiedades básicas, presentan una baja movilidad en los suelos. La *Tabla 4* recoge los contaminantes en función de su movilidad.

$$\text{pK}_a = \text{pH} - \log \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]} \quad \text{Ecuación 3}$$

Tabla 4. Movilidad de los contaminantes emergentes [25]

Valores de pKa	Movilidad
pKa < 3-4	Movilidad alta
10 > pKa > 3-4	Movilidad moderada
pKa > 10	Baja movilidad

Algunas de las propiedades físicas anteriores dependen en gran medida de las condiciones ambientales. Por ejemplo, la temperatura afecta fuertemente la presión del vapor, la solubilidad en agua y, por lo tanto, la constante de la ley de Henry. La temperatura también puede afectar la deposición. Por ejemplo, la distribución de los contaminantes está inversamente relacionada con la presión del vapor y, por lo tanto, con la temperatura. El pH también es importante para evaluar el procesamiento ambiental de los compuestos, aunque no estén sujetos a reacciones hidrolíticas.

Coeficiente de distribución octanol/agua (Dow)

El coeficiente de distribución octanol/agua es una medida de K_{ow} que tiene en cuenta la dependencia del pH de una sustancia química orgánica ionizable, y es la medida de distribución de especies disociadas y no disociadas en octanol y agua en función del pH. La medida en que un compuesto ionizable se disocia en los rangos de pH relevantes para el medio ambiente puede tener un efecto notable en propiedades como la solubilidad en agua. Cabe señalar que la forma neutra de la especie es generalmente menos soluble en agua y por lo tanto es más hidrofóbica en comparación con la forma ionizada o cargada [26].

En general, Dow puede correlacionarse con K_{ow} y pKa mediante las siguientes relaciones:

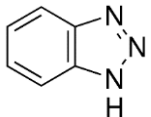
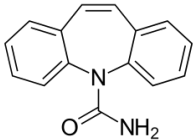
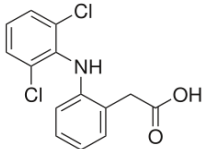
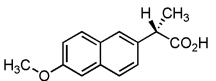
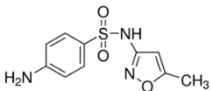
$$\text{Ácidos: } \log D_{ow} = \log K_{ow} - \log[1 + 10^{(pH-pK_a)}] \quad \text{Ecuación 4}$$

$$\text{Bases: } \log D_{ow} = \log K_{ow} - \log[1 + 10^{(pK_a-pH)}] \quad \text{Ecuación 5}$$

Los compuestos con valores de log Dow que oscilan entre 2,3 y 3 son moderadamente hidrofílicos y no tienden a unirse significativamente a la materia orgánica [27]. Asimismo, los compuestos con log Dow < 1 son considerados altamente hidrófilos [28].

Por último, la Tabla 5 recoge todas las propiedades descritas anteriormente de los CE objeto de estudio.

Tabla 5. Propiedades físico-químicas de los contaminantes de estudio ^[29]

Contaminante	Nº CAS	Fórmula molecular	Estructura molecular	PM (g/mol)	log Kow	log Dow	pKa	Solubilidad, 25°C (mg/L)	H Henry (atm·m ³ /mol)
Benzotriazol	95-14-7	C ₆ H ₅ N ₃		119,12	1,44	0,92	8,4	1000-5000 (23,7°C)	1,47·10 ⁻⁷
Carbamazepina	298-46-4	C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O		236,27	2,45	2,77	7,0 / 13,9	17,7	1,08·10 ⁻¹⁰
Diclofenaco	15307-86-5	C ₁₄ H ₁₁ Cl ₂ NO ₂		318,1	4,57	0,96	4,2	2,37	4,75·10 ⁻¹²
Naproxeno	22204-53-1	C ₁₄ H ₁₄ O ₃		230,26	3,18	0,18	5,0	15,9	3,39·10 ⁻¹⁰
Sulfametoxazol	723-46-6	C ₁₀ H ₁₁ N ₃ O ₃ S		253,32	0,90	0,22	1,9 / 5,6	610	9,56·10 ⁻¹³

Tal y como se puede observar en la tabla anterior, el benzotriazol y el sulfametoxazol presentan unos valores altos de solubilidad en agua y, por lo tanto, una mayor tendencia a permanecer disueltos en el agua y a estar expuestos a una variedad de procesos de degradación como, por ejemplo, la biodegradación o la fotodegradación. En cambio, la carbamazepina, el diclofenaco y el naproxeno presentan unos valores menores de solubilidad en agua, lo cual implica una tendencia a precipitarse cuando sobrepasan dicho valor. Asimismo, en general todos los compuestos estudiados son considerados polares o moderadamente polares ($0,9 < K_{ow} < 4,57$), por lo que presentan una baja adsorción en materia orgánica y tienden a movilizarse tanto en las aguas superficiales como subterráneas. Teniendo en cuenta los valores de log Dow, el benzotriazol, el diclofenaco, el naproxeno y el sulfametoxazol son considerados compuestos altamente hidrófilos ($Dow < 1$), mientras que la carbamazepina es un CE moderadamente hidrofílico. Los valores de la constante de Henry tan bajos ($10^{-13} - 10^{-7} \text{ atm}\cdot\text{m}^3/\text{mol}$) indican que ninguno de los compuestos evaluados es volátil.

1.2.5. Legislación en materia de medio ambiente

Los marcos normativos pertinentes que afectan a los CE en el medio ambiente europeo incluyen un conjunto de normas que regulan la comercialización, el uso y las emisiones en el medio ambiente, así como la presencia de contaminantes en el medio ambiente y el agua potable (normas de calidad/seguimiento). La combinación de medidas reglamentarias y de gestión es fundamental para una gestión más eficaz de los recursos hídricos ^[30].

La Directiva 2000/60/CE de la Unión Europea (Directiva Marco del Agua, DMA) es probablemente la marca más significativa en la legislación sobre el agua de la Unión Europea. Su objetivo principal es establecer un marco para la protección de las aguas superficiales continentales, las aguas de transición, las aguas costeras y las aguas subterráneas, así como intensificar el seguimiento de los contaminantes en los ecosistemas y mejorar el control de la liberación de contaminantes.

En el año 2008, la Directiva 2008/105/CE del Parlamento Europeo estableció las Normas de Calidad Ambiental (NCA) para las sustancias prioritarias y para otros contaminantes, con el objetivo de conseguir un buen estado químico de las aguas superficiales. Para ello, se identificaron 33 contaminantes o grupos de contaminantes prioritarios (PS, del inglés *priority substances*) y se sugirió la posible identificación de otros 13 PS, basándose en los datos disponibles sobre los efectos agudos y crónicos en el medio acuático y la salud humana.

Recientemente, la Directiva 2013/39/UE modificó las Directivas de los años 2000 y 2008 e incluyó una lista de 45 PS y también otros contaminantes con NCA definidas a tener en cuenta. Esta actualización reforzó la acción preventiva (destacando el principio de quien contamina paga), la identificación de las causas de la contaminación, la necesidad de hacer frente a las emisiones de contaminantes en la fuente y la necesidad de desarrollar tecnologías innovadoras de tratamiento de aguas y aguas residuales.

En el año 2015, la Decisión 2015/495/UE estableció una lista de 10 PS en una lista de vigilancia (Watch List), los cuales deben ser controlados en las aguas superficiales dentro de la UE. Entre dichos contaminantes, se encuentra uno de los compuestos de estudio de este trabajo, el diclofenaco.

Finalmente, la resolución legislativa del Parlamento Europeo, de 12 de febrero de 2019, en respuesta al reglamento del Parlamento Europeo y del Consejo relativo a los requisitos mínimos para la reutilización del agua, instauró la necesidad de tener en cuenta los avances científicos. En particular, los relativos a los controles de los microcontaminantes y de las nuevas sustancias denominadas «contaminantes emergentes», a fin de garantizar tanto la seguridad en el uso del agua como la protección del medio ambiente y la salud humana.

1.3. Medidas para la mitigación de contaminantes emergentes

Los estudios sobre la eliminación de los CE han sido centrados principalmente en las EDAR de lodos activados convencionales, en los que se ha podido observar que los tratamientos llevados a cabo son ineficientes. Por tanto, se precisan tecnologías alternativas de tratamiento de aguas residuales para transformar los CE en compuestos menos tóxicos.

Las tecnologías ya aplicadas a gran escala incluyen biorreactores de membrana, adsorción por carbón activado, procesos basados en membranas (p. ej., microfiltración, ultrafiltración, nanofiltración y ósmosis inversa), y algunas tecnologías de oxidación química y oxidación avanzada, tales como la ozonización y UV/H₂O₂ ^[31]. No obstante, estas tecnologías tienen como inconveniente su elevado coste de construcción, mantenimiento y explotación debido a su alta demanda energética. Por el contrario, los humedales construidos (CW, del inglés *constructed wetland*) han sido utilizados en el tratamiento de aguas residuales, debido a sus ventajas conocidas como la simplicidad, bajos costos de operación y mantenimiento y un efluente de alta calidad. Los CW se pueden definir como sistemas de tratamiento que utilizan procesos naturales que involucran la vegetación de los humedales, los suelos y los grupos microbianos asociados

para mejorar la calidad del agua ^[32] y son capaces de remover eficientemente sólidos en suspensión, materia orgánica, nutrientes y metales. Además, en los últimos años se ha podido constatar que son eficientes en la eliminación de CE. No obstante, una de sus limitaciones es su elevada área superficial requerida. Mientras que la tecnología de lodos activados requiere aproximadamente 0,06 m²/hab-eq., los CW de flujo subsuperficial vertical, de flujo subsuperficial horizontal y de flujo superficial requieren 2, 5 y 8 m²/hab-eq., respectivamente, para alcanzar las mismas eficiencias de eliminación de contaminantes ^[4].

1.3.1. Fitorremediación - exudados

La fitorremediación es un método de remediación ecológica y rentable en el que las plantas se utilizan para purificar los suelos y sedimentos contaminados. Muchas plantas han sido utilizadas para remediar el suelo contaminado por compuestos orgánicos como los hidrocarburos aromáticos policíclicos y los bifenilos policlorados. Sin embargo, solo un pequeño porcentaje de los contaminantes orgánicos son degradados por las plantas, mientras que la mayoría de los contaminantes orgánicos del suelo son degradados por los microorganismos en la rizosfera. Por lo tanto, la rizorremediación (descomposición de contaminantes dentro de la rizosfera, realizado por bacterias u otros microorganismos que florecen en la rizosfera) es un aspecto importante de la fitorremediación.

En este sentido, la vegetación presente en los CW se cree que contribuye positivamente a la eliminación de CE mediante la creación de rutas aeróbicas en el sustrato con el oxígeno liberado por las raíces de las plantas y sus correspondientes microambientes en la rizosfera. Además, los macrófitos tienen muchas otras propiedades (por ejemplo, estabilizar la superficie del lecho, actuar como una superficie de anclaje para la biopelícula y la liberación de exudados), lo que los convierte en un factor clave. Asimismo, su presencia también promueve la eliminación de CE por varios mecanismos de biodegradación y/o fitorremediación.

Las señales químicas mediante las cuales las plantas se comunican con los microorganismos son denominadas exudados radiculares, y pueden jugar un papel muy importante en la transformación de contaminantes en el microecosistema de la rizosfera. Los exudados radiculares han sido agrupados en dos clases: compuestos de bajo peso molecular (aminoácidos, ácidos orgánicos, azúcares, compuestos fenólicos y otros metabolitos secundarios) y compuestos de alto peso molecular (polisacáridos y proteínas). La composición cualitativa y cuantitativa de los exudados radiculares está determinada por el cultivo, las especies de plantas,

el estado de desarrollo de la planta, además de varios factores ambientales como el tipo de suelo, el pH, la temperatura y la presencia de microorganismos ^[33].

Así, las plantas utilizan diferentes mecanismos de transporte para exportar y secretar compuestos a la rizosfera. Generalmente, los exudados radiculares pueden ser liberados por las raíces de las plantas a través de mecanismos pasivos (difusores) o activos (secreciones). Por un lado, la mayoría de los compuestos orgánicos de bajo peso molecular son liberados por las plantas a través de un proceso pasivo. Las moléculas polares pequeñas y no cargadas son transportadas por difusión pasiva directa, un proceso que depende de la permeabilidad de la membrana, la polaridad de los compuestos exudados y el pH. Por otro lado, las células radiculares de las plantas secretan otros compuestos, como metabolitos secundarios, polisacáridos y proteínas, con la ayuda de diferentes proteínas ligadas a la membrana ^[33].

Aunque se pueden excretar 200 o más compuestos individuales de las raíces de las plantas ^[34], la exudación de la raíz está formada principalmente por compuestos de bajo peso molecular como azúcares (por ejemplo, glucosa o sacarosa), aminoácidos (por ejemplo, glutamato, arginina o glicina) y ácidos orgánicos (por ejemplo, salicílico, lactato u oxálico).

En este sentido, los exudados escogidos han sido la glucosa (azúcar), la arginina (aminoácido) y el ácido salicílico (ácido orgánico) ya que con frecuencia dominan la exudación radicular. ^{[34] [35]}

1.3.2. Filtración lenta de arena

La filtración lenta de arena (SSF, del inglés *slow sand filtration*) es una de las primeras formas de tratamiento de agua potable y sigue siendo un proceso importante para la purificación del agua en todo el mundo. En las plantas de tratamiento de agua convencionales, la SSF es generalmente la tercera etapa de purificación del agua después del almacenamiento en reservorio y la filtración rápida, antes de la desinfección ^[36]. La simplicidad en la operación y el mantenimiento, así como los bajos costos operativos debido al bajo consumo de energía, son una de las principales ventajas de la SSF en comparación con los métodos más sofisticados de tratamiento de agua.

Idealmente, los microorganismos utilizan los microcontaminantes orgánicos para acumular biomasa o para obtener energía. Los reactores de biopelícula se pueden implementar en sistemas de biofiltración ^[37]. Múltiples estudios se han centrado en los reactores de biopelícula para eliminar los microcontaminantes orgánicos del agua potable bruta mediante el uso de pasajes subterráneos (*underground passage*), filtración ribereña (*river bank filtration*), etc., que

son similares, pero que por lo general no están diseñados, sino que crecen en condiciones naturales ^[31]. Sin embargo, solamente una cantidad muy limitada de estudios utiliza procesos de biopelícula en medios porosos para eliminar los microcontaminantes orgánicos de las aguas residuales ^{[38] [39]}. Por ejemplo, estudios anteriores investigaron las extracciones de varios CE utilizando procesos de SSF y encontraron que las eliminaciones variaban considerablemente (generalmente por debajo del 80%), indicando una tecnología potencial pero no suficiente por sí sola ^{[31] [40]}.

La eficacia de los reactores de biopelícula para el tratamiento de aguas depende del tiempo de residencia hidráulico (HRT, del inglés *hydraulic retention time*) y del área de la superficie de la biopelícula. Sin embargo, se desconoce la configuración más eficiente para la biodegradación de los microcontaminantes orgánicos y los mecanismos involucrados son poco claros. Normalmente hay dos mecanismos relevantes para los sistemas de biopelícula porosa: la biodegradación y la absorción ^[31].

Este estudio se centra en la biodegradación de cinco microcontaminantes representativos (benzotriazol, sulfametoxazol, naproxeno, carbamazepina y diclofenaco) que suelen ser recalcitrantes tras el tratamiento de lodos activados mediante SSF, pero añadiendo como novedad la adición de señales químicas procedentes de exudados radiculares (arginina, glucosa y ácido salicílico).

2. Objetivos e hipótesis del trabajo

El objetivo principal del trabajo es evaluar el efecto del uso de señales químicas procedentes de los exudados de plantas para incrementar la eficiencia de eliminación de contaminantes emergentes durante el tratamiento de aguas residuales mediante filtros de arena. Para alcanzar dicho objetivo se establecen una serie de objetivos específicos:

1. Evaluar la eficiencia de eliminación de cinco contaminantes emergentes (benzotriazol, carbamazepina, diclofenaco, naproxeno y sulfametoxazol) durante el tratamiento de aguas residuales sintéticas mediante filtros de arena en presencia y ausencia de exudados (arginina, glucosa y ácido salicílico).
2. Evaluar el efecto combinado de los diferentes exudados en la eficiencia de eliminación de contaminantes emergentes durante dicho tratamiento.

La hipótesis de partida es la siguiente:

- La adición de exudados químicos procedentes de plantas en filtros de arena incrementa la eficiencia de eliminación de contaminantes emergentes hasta valores similares a los observados en humedales contruidos, pero sin la necesidad de vegetación.

3. Material y métodos

3.1. Reactivos y productos químicos

La mayoría de los CE estudiados (benzotriazol, carbamazepina, diclofenaco, naproxeno), así como todos los exudados objeto de estudio (arginina, glucosa, ácido salicílico) han sido adquiridos de Sigma-Aldrich y tienen una pureza $\geq 99\%$. Sin embargo, el antibiótico sulfametoxazol y la sulfametoxina han sido obtenidos de Fluka Analytical.

Asimismo, se han usado diversos compuestos provenientes de Merck para realizar las diluciones necesarias: acetonitrilo de grado isocrático para HPLC, ácido fórmico 98-100% y metanol para HPLC. El agua MiliQ ha sido obtenida de un equipo Mili-Q plus del centro de trabajo. Por último, los filtros de politetrafluoroetileno (PTFE) hidrofílicos de 0,22 μm han sido adquiridos de Frisette.

3.2. Metodología analítica

Primero, se han recogido muestras de agua en el afluente y efluente de cada una de las columnas. Tras ello, se ha filtrado 1,0 mL de muestra de agua con un filtro de politetrafluoroetileno (PTFE) de 0,22 μm y se han añadido 130 $\mu\text{g/L}$ de sulfametoxina como estándar instrumental. Por último, se han inyectado en un cromatógrafo líquido de ultra alta resolución (UHPLC) Nexera X2 equipado con un detector de arreglo de fotodiodos (SPD-M30A) (Shimadzu UK Ltd, Milton Keynes, Reino Unido) (*Figura 4*). La separación cromatográfica se ha realizado en una columna Ascentis® Express RP-Amide 10 cm x 2,1 mm con un tamaño de partícula de 2,7 μm (Supelco, Bellefonte, EE.UU.) con una columna de protección (0,5 cm x 2,1 mm, Supelco, Bellefonte, EE.UU.) que contiene el mismo material de empaquetamiento.



Figura 4. UHPLC empleado para la determinación de las concentraciones de los CE

El caudal y el volumen de inyección han sido de 0,35 mL/min y 25 μ L, respectivamente. Asimismo, las temperaturas del horno de columna y del cargador de muestras se han fijado en 25°C y 15°C, respectivamente. Por último, la *Tabla 6* muestra el gradiente binario de fase móvil A (agua con 0,1% de ácido fórmico) y fase móvil B (acetonitrilo con 0,1% de ácido fórmico).

Tabla 6. Composición del gradiente de la fase móvil

Tiempo (min)	% A	% B
1,00	90,0	10,0
10,00	0,0	100,0
15,00	0,0	100,0
16,00	90,0	10,0
21,00	90,0	10,0

La calidad del método ha sido evaluada mediante la estimación de la linealidad, la sensibilidad (cálculo de los límites de la detección y límites de cuantificación) y la precisión. En general, las respuestas lineales han dado un buen ajuste ($R^2 > 0,99$) y los puntos de concentración establecidos en la recta han sido desde 0,001 a 1 mg/L (ver *Tabla 7*).

Los límites de detección (LOD) han sido analizados teniendo en cuenta la señal del blanco del método, se han calculado como la media de estos valores más tres veces su desviación estándar y han variado desde 1,7 a 3,8 μ g/L. De igual manera, los límites de cuantificación (LOQ) se han calculado como la media de estos valores más diez veces su desviación estándar y han variado

desde 2,6 a 6,0 µg/L. La recta de calibración incluye concentraciones de 0,000 - 0,001 - 0,004 - 0,008 - 0,016 - 0,031 - 0,063 - 0,125 - 0,250 - 0,500 - 1,000 mg/L a partir de una mezcla de los patrones de CE de 10 mg/L.

A continuación, la *Figura 5* muestra la separación cromatográfica de los diferentes CE evaluados en el trabajo.

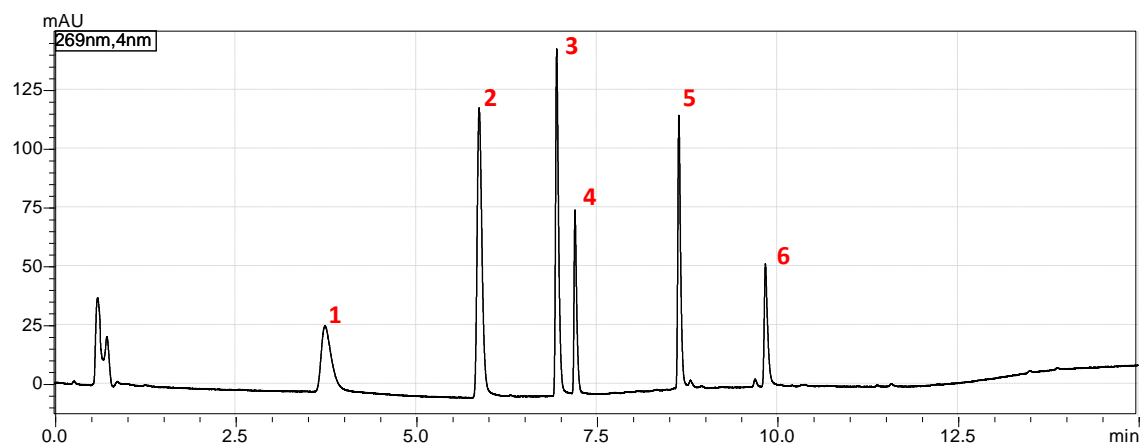


Figura 5. Cromatograma de un patrón de la recta de calibrado. Contaminantes determinados mediante UHPLC 1-Benzotriazol, 2-Sulfametoxazol, 3-Sulfametoxine, 4-Carbamazepina, 5-Naproxeno, 6-Diclofenaco (250 µg/L)

Tabla 7. Tiempo de retención (TR), longitud de onda, LOD, LOQ, recuperación, repetividad y linealidad

Compuesto	TR (min)	Longitud de onda (nm)	LOD (µg/L)	LOQ (µg/L)	CV (%)	Linealidad (µg/L)
Benzotriazol	3,9	258	2,3	3,2	7	1-1000
Sulfametoxazol	6,0	268	2,8	3,2	2	1-1000
Sulfametoxina*	7,0	237		-	-	-
Carbamazepina	7,2	285	3,8	6,0	11	4-1000
Naproxeno	8,7	240	1,7	2,6	11	1-1000
Diclofenaco	9,9	276	1,9	3,3	13	1-1000

*estándar interno

Los valores de LOQ y LOD de la *Tabla 7* indican la alta sensibilidad del equipo utilizado. Esto ha hecho posible detectar concentraciones bajas de CE de manera directa en las muestras, sin necesidad de un proceso de preconcentración.

3.3. Diseño experimental

El sistema de tratamiento de agua ha sido construido a partir de 12 columnas de metacrilato de 33 cm de longitud y 4,4 cm de diámetro, cada una de ellas rellenas de 2 cm de grava, así como 25 cm de arena (0,7 mm de diámetro) (ver *Figura 6*).

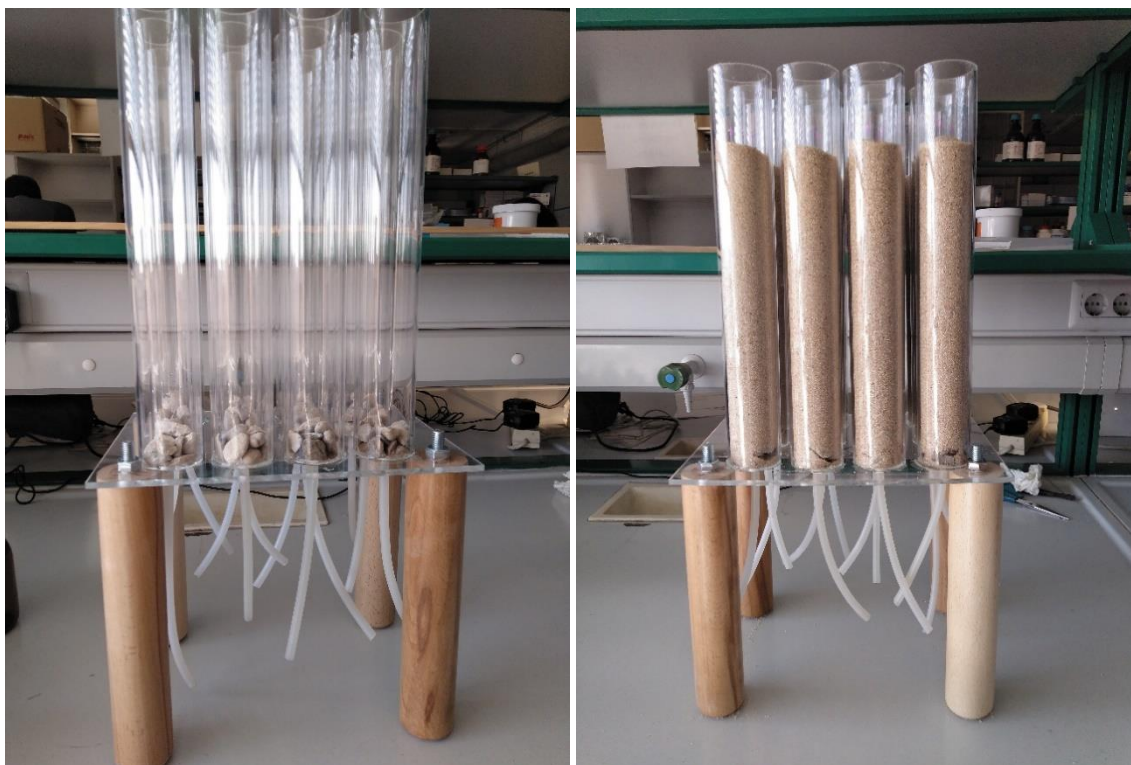


Figura 6. Diseño experimental del sistema de tratamiento de agua, fase inicial

Las columnas han sido operadas en modo de flujo continuo durante cinco meses, alimentadas desde un depósito de 10 L que contenía agua de pozo enriquecida con una solución de nutrientes compuesta por 506 mg/L de KNO_3 , 820 mg/L de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 136 mg/L de KH_2PO_4 , 33,8 mg/L de TARSAN y 222,9 mg/L de MgSO_4 ^[41]. Para lograr un asentamiento más rápido de la biopelícula se inyectó, durante un periodo de 24 horas, un volumen total de 12 L de agua residual proveniente de la EDAR del municipio Montcada i Reixac situada en las afueras de Barcelona (España), con una capacidad de diseño de 72.000 m³/d. Por último, el agua ha sido bombeada gracias a dos bombas peristálticas compactas MINIPULS® 3 (Gilson, USA).

Tanto los cuatro depósitos de alimentación de agua como las doce columnas han sido cubiertas con papel de aluminio para prevenir la fotodegradación y el crecimiento de algas en su interior (*Figura 7*).



Figura 7. Diseño experimental del sistema de tratamiento del agua

En este trabajo se ha evaluado una carga hidráulica (HLR, del inglés *hydraulic loading rate*) de $0,012 \text{ m}^3/\text{m}^2 \cdot \text{h}$ ^[31] ya que en estudios anteriores se ha constatado ser la óptima en sistemas de filtración lenta con arena ^[42]. Asimismo, a partir de dicha HLR, se ha calculado el caudal necesario, obteniendo un valor de $0,304 \text{ mL/min}$ por columna.

Los depósitos de alimentación de las columnas se han dopado hasta una concentración de $150 \text{ } \mu\text{g/L}$, a partir de una solución madre patrón con una concentración de 6.000 mg/L (mix de todos los CE en metanol). Asimismo, en cada depósito se ha inyectado un exudado diferente, excepto un depósito que se ha dejado como control. La composición de los exudados utilizados en este experimento ha sido de 50 mM de glucosa, 25 mM de ácido salicílico, y $12,5 \text{ mM}$ arginina ^[35] (ver Figura 8).

Las columnas se han dejado aclimatar con el agua con nutrientes durante tres meses. Seguidamente, todas las columnas ($n=12$) han sido expuestas a los CE seleccionados durante una semana más antes de añadir los exudados. Los primeros muestreos se han realizado 5-10-12-14 días después de la inyección de los exudados. En el decimocuarto día, se ha dejado de suministrar dichos compuestos químicos y se han realizado muestreos en los días 17, 19, 21, 25 y 28 después del inicio del muestreo.



Figura 8. Distribución de las columnas y sus respectivos tratamientos (1)

El siguiente paso ha sido evaluar el efecto combinado de los diferentes exudados, así como la dilución de la combinación de los tres exudados. Para ello, se han creado tres líneas de tratamiento (Figura 9):

- Combinación de arginina y glucosa (12,5 mM y 50 mM, respectivamente).
- Combinación de arginina 12,5 mM, glucosa 50 mM y ácido salicílico 25 mM.
- Combinación de exudados con una dilución de 1:10 (v/v), resultando en 1,25 mM, glucosa 5 mM y ácido salicílico 2,5 mM.

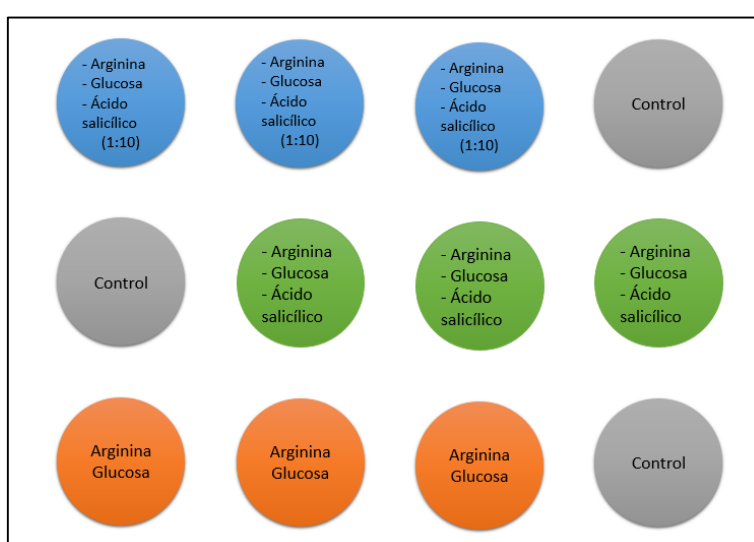


Figura 9. Distribución de las columnas y sus respectivos tratamientos (2)

Por último, la *Tabla 8* resume todas condiciones evaluadas en este trabajo.

Tabla 8. Lista de las condiciones evaluadas

CONDICIONES EVALUADAS	CONCENTRACIÓN EXUDADOS
1 – Control	No exudados
2 – Arginina	12,5 mM
3 – Glucosa	50 mM
4 – Ácido salicílico	25 mM
5 – Arginina + Glucosa	12,5 mM arginina 50 mM glucosa
6 – Arginina + Glucosa + Ácido salicílico	12,5 mM arginina 50 mM glucosa 25 mM ácido salicílico
7 – Arginina + Glucosa + Ácido salicílico 1:10 (v/v)	1,25 mM arginina 5 mM glucosa 2,5 mM ácido salicílico

3.4. Análisis estadístico

La eliminación se ha calculado comparando las concentraciones de salida (C_1) con las de entrada (C_0) de las columnas (*Ecuación 6*).

$$\% = \left(1 - \frac{C_1}{C_0}\right) \cdot 100 \quad \text{Ecuación 6}$$

Los resultados experimentales han sido evaluados estadísticamente. Para ello, se han realizado comparaciones de las diferencias en las eficiencias de remoción de los CE entre las diferentes condiciones evaluadas mediante la prueba t de Student utilizando el programa estadístico XLSTAT. Las diferencias se han considerado significativas cuando $p < 0,05$.

4. Resultados y discusión

4.1. Efecto individual de los exudados

A lo largo del periodo de experimentación (aproximadamente un mes), se ha monitorizado la concentración de los CE de estudio, tanto del agua de entrada como de la salida de cada columna, para así poder calcular su eliminación a lo largo del sistema. La *Figura 10* muestra los gráficos donde se representa la evolución de las eliminaciones de los cinco CE en cada condición evaluada (control, adición de arginina, glucosa y ácido salicílico). Asimismo, se ha indicado con una línea discontinua el momento a partir del cual se han dejado de inyectar los exudados al sistema.

Tal y como se puede observar, los cinco CE de estudio han mostrado diferentes tendencias en términos de eficiencia de eliminación durante los 28 días de muestreo. En general, todos los contaminantes muestran un incremento en la eliminación tras la adición de los exudados al medio, a excepción del naproxeno. En este sentido, las eficiencias de eliminación se han evaluado al cabo de 10 días de exposición a exudados con el fin de aclimatar el biofilm presente en las columnas. La *Tabla 9* resume los valores promedio de las eliminaciones conseguidas tras 10 días de aclimatación al medio, considerando los días de muestreo 10, 12 y 14.

Tabla 9. Valores promedio de la eliminación de los CE tras la adición de exudados individualmente

	Benzotriazol	Sulfametoxazol	Carbamazepina	Naproxeno	Diclofenaco
Control	14 ± 8%	17 ± 5%	9 ± 6%	84 ± 7%	33 ± 12%
Arginina	49 ± 3%	71 ± 9%	11 ± 6%	39 ± 6%	4 ± 6%
Glucosa	20 ± 4%	86 ± 5%	15 ± 7%	42 ± 9%	28 ± 8%
Ácido salicílico	21 ± 6%	58 ± 10%	-	20 ± 6%	63 ± 9%

En el caso del benzotriazol, las eliminaciones han variado notablemente entre las cuatro condiciones analizadas, con un valor medio más alto tras la adición de arginina de 49 ± 3% (diferencia significativa, $p < 0,05$), en comparación con la glucosa (20 ± 4%) y el ácido salicílico (21 ± 6%). Asimismo, el gráfico muestra el aumento en la eliminación del benzotriazol tras la adición de los tres exudados seleccionados, contrastando los valores obtenidos con los del sistema de control (valor medio de 14 ± 8%). De igual forma, se puede observar una disminución considerable en el caso de la arginina tras dejar de inyectar los exudados (29 ± 8%), mientras que, si se trata de la glucosa, la eliminación aumenta un poco (27 ± 5%) y la del ácido salicílico apenas varía (20 ± 5%). Por lo tanto, la adición de arginina ha conllevado el mayor incremento en la eficacia del benzotriazol.

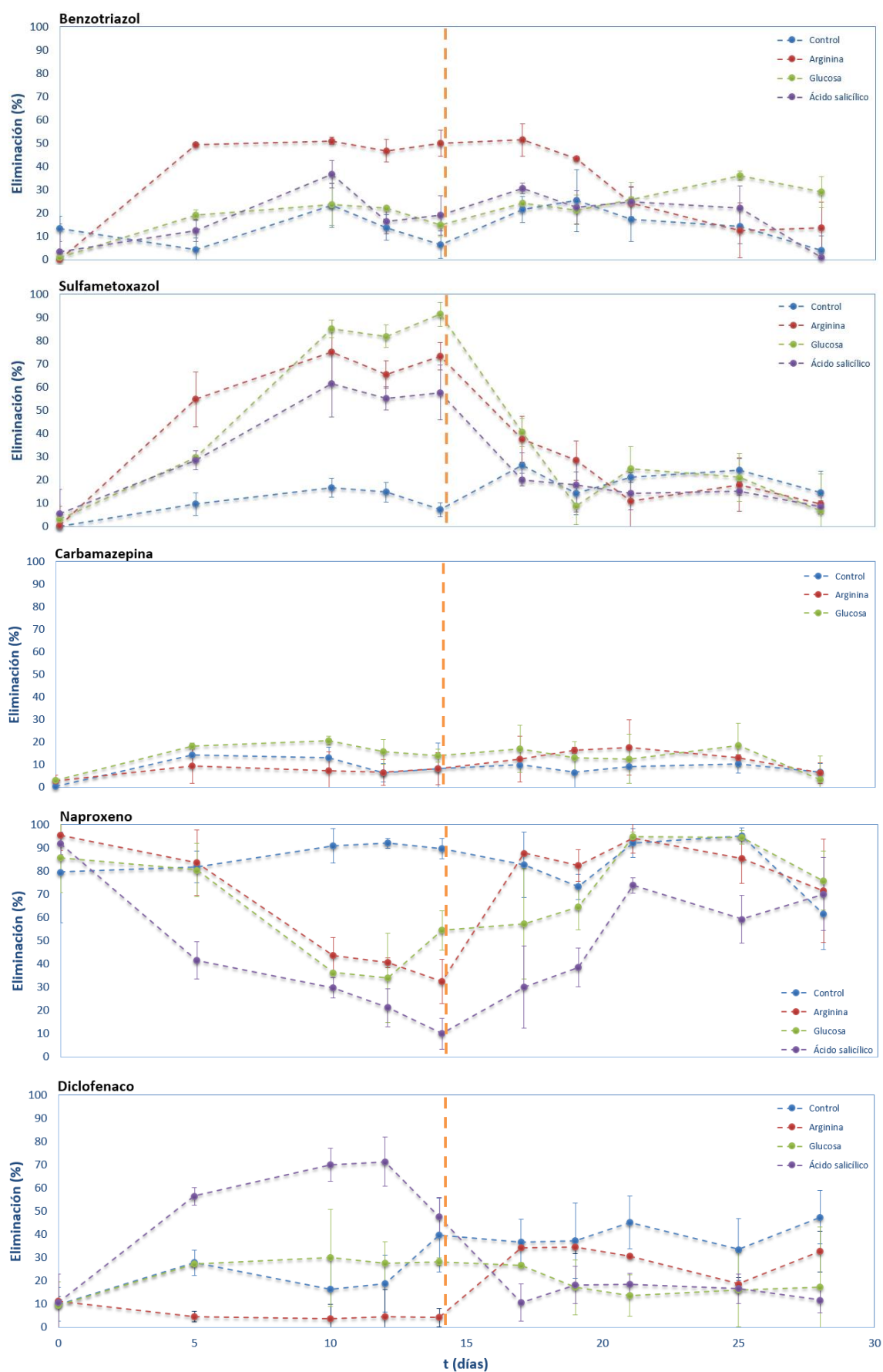


Figura 10. Evolución temporal de la eliminación de los CE tras la inyección de exudados individualmente

En cuanto al sulfametoxazol, se han observado diferencias significativas entre las columnas con exudados en el medio y las columnas de control ($p < 0,05$). La mayor eliminación ha sido observada en el tratamiento con la glucosa, ya que ha aumentado paulatinamente y alcanzado un valor medio de $86 \pm 5\%$ después de 10 días de aclimatación. Los sistemas que han contado con arginina y ácido salicílico también han obtenido eliminaciones mayores que las del control ($17 \pm 5\%$), con unos valores medios de $71 \pm 9\%$ y $58 \pm 10\%$, respectivamente. Sin embargo, tras realizar una comparación estadística entre los valores de eliminación de sulfametoxazol entre los diferentes exudados, únicamente se han observado diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los valores obtenidos entre la glucosa y el ácido salicílico. Una vez se ha dejado de suministrar exudados en el sistema, se puede observar una clara disminución de la eliminación hasta 15-20% dependiendo del exudado. Además, a partir de los cinco días sin exudados en el sistema, se vuelve a la eliminación inicial, sin diferencias estadísticas entre los diferentes reactores ($p > 0,05$).

Como se puede observar, las tasas de eliminación de la carbamazepina han sido las más bajas en comparación con los otros cuatro contaminantes estudiados y las eliminaciones han variado en menor medida entre las diferentes condiciones estudiadas. Se debe de tener en cuenta la inviabilidad de detección de la carbamazepina en el tratamiento del ácido salicílico con el método utilizado (coelución del ácido salicílico y la carbamazepina), por lo que se ha optado por ignorar dicho exudado en el estudio de este contaminante. Tanto la glucosa como la arginina han logrado valores medios de eliminación muy similares al control, $15 \pm 7\%$ glucosa, $11 \pm 6\%$ arginina y $9 \pm 6\%$ control, sin diferencias estadísticas entre tratamientos ($p > 0,05$). Además, la atenuación se ha mantenido constante tras dejar de inyectar exudados en el sistema.

Tal y como se ha mencionado anteriormente, al contrario que los demás contaminantes, la adición de los exudados ha conllevado la disminución de la eliminación del naproxeno. Mientras que la eliminación en las columnas de control ha obtenido un valor medio de $84 \pm 7\%$, se puede observar una clara disminución de la eliminación del contaminante nada más introducir los exudados en el medio. Partiendo de una eliminación de alrededor de 90% en los tres casos, los porcentajes han disminuido hasta valores en torno a 30% en el caso de la arginina y la glucosa, y 10% si se trata del ácido salicílico. Por último, debe ser resaltado el aumento en la eliminación nada más quitar los exudados del medio, consiguiendo así eliminaciones similares a las originales.

Los valores de eliminación del diclofenaco han variado notablemente entre las cuatro condiciones evaluadas. El ácido salicílico ha resultado ser el exudado que mayor eliminación de

contaminante ha supuesto, con un valor promedio después del periodo de aclimatación de $63 \pm 9\%$, estadísticamente diferente ($p < 0,05$) al control ($33 \pm 12\%$). Sin embargo, tras dejar de inyectar el exudado, la eliminación ha descendido hasta un $15 \pm 6\%$. La glucosa también ha supuesto un incremento de la eliminación del contaminante, pero en menor medida que el ácido salicílico ($28 \pm 8\%$) y con valores similares a los obtenidos en el control ($33 \pm 12\%$). Además, la eficacia de degradación apenas ha fluctuado una vez se ha dejado de administrar el exudado. Finalmente, la adición de arginina ha supuesto un descenso de la eliminación de diclofenaco, obteniendo así valores ($4 \pm 6\%$) estadísticamente inferiores a los del sistema de control ($p > 0,05$). Sin embargo, una vez se ha dejado de adicionar el exudado la eliminación del contaminante ha ascendido hasta $30 \pm 3\%$.

4.2. Efecto combinado de los exudados

Tras observar los efectos de cada exudado individualmente, se ha optado por hacer diferentes combinaciones de exudados y observar el efecto combinado de los mismos en la eficiencia de eliminación. Por un lado, teniendo en cuenta la mayor eficacia de eliminación de la arginina y de la glucosa en comparación con el ácido salicílico en los contaminantes de estudio (a excepción del diclofenaco), ambos exudados han sido inyectados de manera conjunta. Por otro lado, se han combinado los tres exudados para poder evaluar la eficiencia conjunta.

La *Figura 11* muestra la evolución temporal de las eliminaciones de los cinco CE en cada columna tras la inyección de los exudados de forma combinada. Al igual que el análisis de los efectos de los exudados adicionados individualmente, la combinación de ellos también ha mostrado diferentes tendencias en términos de eficiencia de eliminación de los CE de estudio. La *Tabla 10* resume los valores promedio de las eliminaciones conseguidas tras la adición combinada de exudados.

Tabla 10. Valores promedio de la eliminación de los CE tras la adición combinada de exudados

	Benzotriazol	Sulfametoxazol	Carbamazepina	Naproxeno	Diclofenaco
Control	$10 \pm 9\%$	$20 \pm 10\%$	$5 \pm 8\%$	$53 \pm 9\%$	$44 \pm 7\%$
Arginina-Glucosa	$10 \pm 9\%$	$58 \pm 11\%$	$7 \pm 9\%$	$16 \pm 8\%$	$17 \pm 6\%$
Arginina-Glucosa- Ácido salicílico	$23 \pm 11\%$	$33 \pm 7\%$	-	$27 \pm 11\%$	$38 \pm 13\%$
Arginina-Glucosa- Ácido salicílico (1:10)	$65 \pm 8\%$	$28 \pm 7\%$	$13 \pm 6\%$	$64 \pm 14\%$	$59 \pm 4\%$

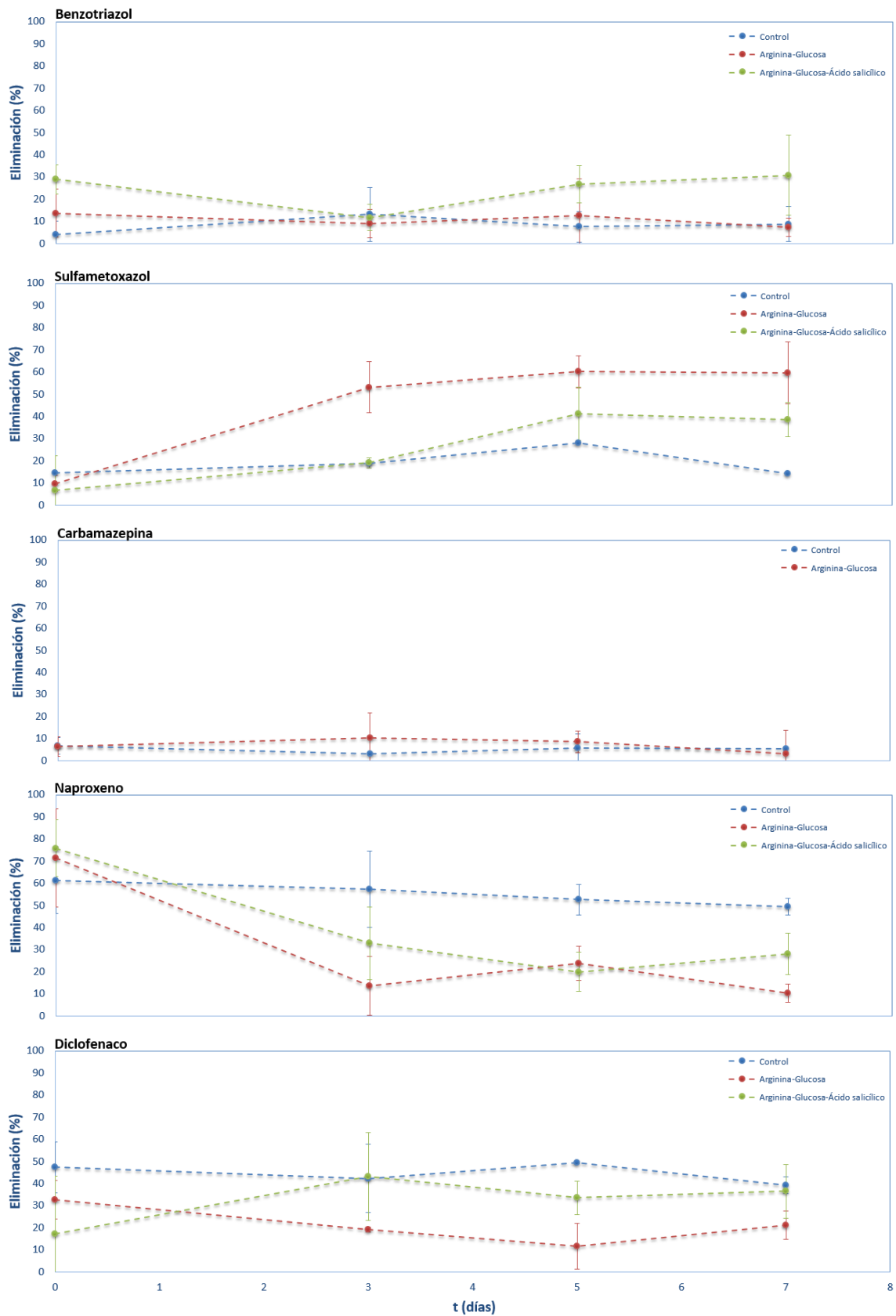


Figura 11. Evolución temporal de la eliminación de los CE tras la inyección de exudados combinados

A pesar de que la adición de arginina y glucosa individualmente ha supuesto una mayor eficiencia de eliminación en la mayoría de los CE seleccionados, la combinación de ambos exudados solamente ha conllevado una eliminación estadísticamente significativa ($p < 0,05$) en el caso del sulfametoxazol. Los valores de degradación del contaminante han aumentado desde un $10 \pm 3\%$ hasta un valor medio de $58 \pm 11\%$ tras la adición conjunta de los dos exudados. Sin embargo, en el caso del benzotriazol y la carbamazepina, los valores de eliminación apenas han variado tras la adición de ambos exudados. Por último, tal y como se esperaba teniendo en cuenta los resultados de los exudados individuales, el naproxeno ha sufrido una disminución de significativa de la eliminación en cuanto se ha inyectado la combinación de ambos exudados ($p < 0,05$). Así, partiendo de una eliminación de $72 \pm 22\%$, la eliminación ha bajado hasta un valor medio de $16 \pm 8\%$. De igual forma, pero menos claramente, la adición de ambos exudados ha significado el descenso en la eliminación de diclofenaco, disminuyendo el porcentaje desde $32 \pm 9\%$ hasta $17 \pm 6\%$ ($p > 0,05$).

La evolución de la eliminación de los CE de estudio en el caso de la combinación de los tres exudados (arginina, glucosa y ácido salicílico), ha sido similar a la adición combinada de arginina y glucosa. Al igual que en el anterior caso, la eliminación de benzotriazol apenas ha variado a lo largo del tiempo de muestreo. Asimismo, los valores de degradación del sulfametoxazol han aumentado desde $7 \pm 16\%$ hasta valores medios de $33 \pm 7\%$ ($p < 0,05$). Al contrario que en el caso anterior, tras la inyección de los exudados la eficiencia de eliminación del diclofenaco ha sufrido un aumento (de $17 \pm 26\%$ a $38 \pm 13\%$), pero no estadísticamente significativo ($p > 0,05$). En cuanto al naproxeno, de igual forma que en el anterior caso, su eliminación ha descendido notablemente, alcanzando así unos valores de $27 \pm 11\%$.

Por lo tanto, si se comparan las dos condiciones de exudados combinados evaluadas (combinación de arginina y glucosa por un lado y combinación de arginina, glucosa y ácido salicílico por otro), existen algunas diferencias en cuanto a eficacia de eliminación de los CE, principalmente en el sulfametoxazol y en el diclofenaco. Por un lado, la combinación de arginina y glucosa ha supuesto un aumento de eliminación mayor de sulfametoxazol que la obtenida por la mezcla de los tres exudados ($58 \pm 11\%$ y $38 \pm 13\%$, respectivamente). Por otro lado, la adición de los tres exudados ha conllevado un aumento de un 20% en la degradación del diclofenaco, mientras que la suma de arginina y glucosa ha conllevado una disminución de 15%.

Como último paso, se ha considerado una posible precipitación de exudados debido a concentraciones muy elevadas de los mismos y se ha optado por realizar una dilución de 1:10

(v/v) de los tres exudados seleccionados e inyectarlos combinados, con el fin de verificar si menores concentraciones incrementarían la eficiencia de eliminación de los CE.

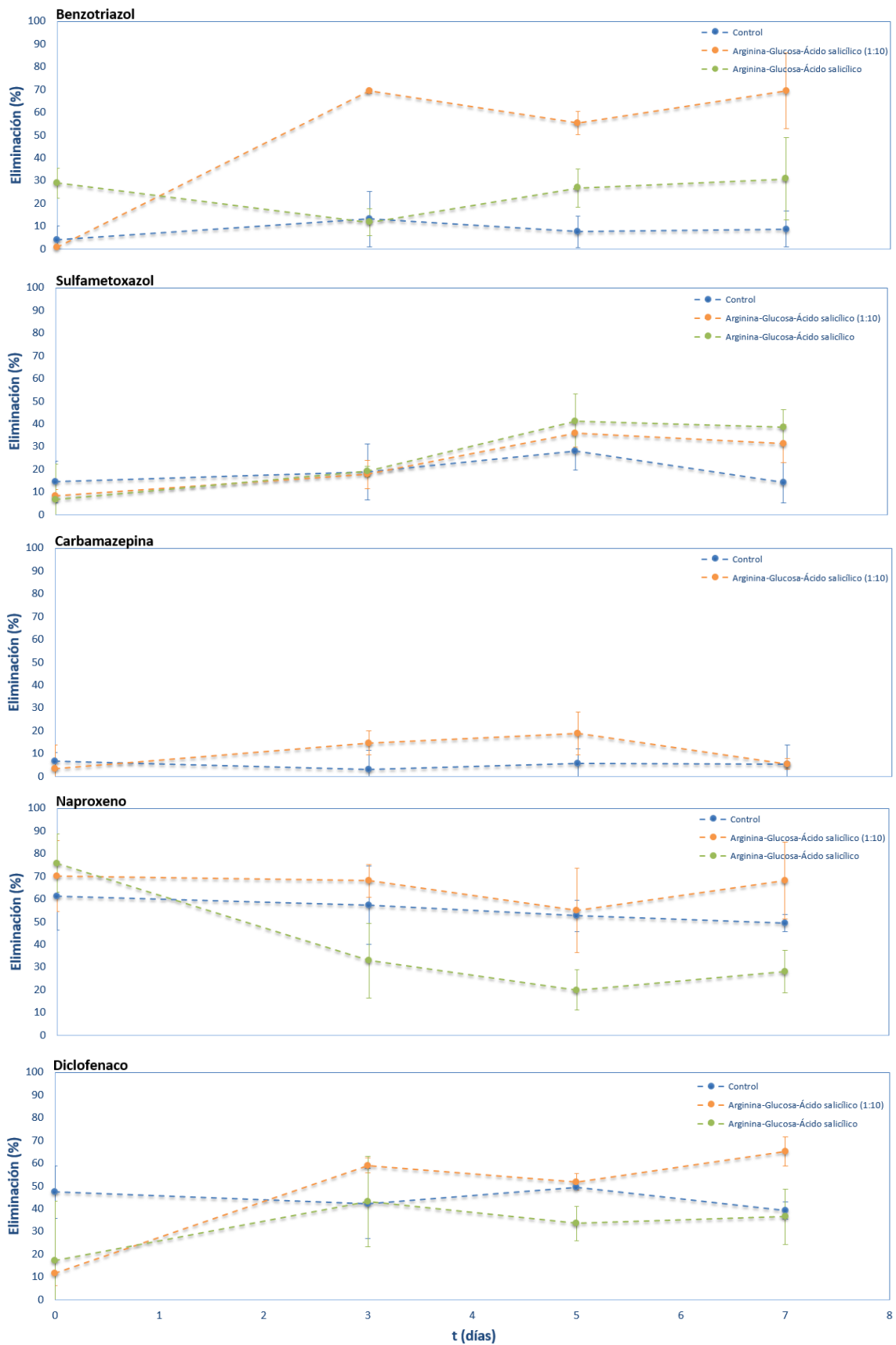


Figura 12. Evolución temporal de la eliminación de los CE tras la inyección de exudados combinados y diluidos

La *Figura 12* muestra la evolución temporal de las eliminaciones de los cinco CE, tanto en el sistema de control como tras la inyección de la combinación de exudados, diluidos y no diluidos. Tal y como se puede observar en los gráficos, al igual que en el primer caso (dosis de exudados individuales), en esta ocasión cuatro de los cinco CE han mostrado un aumento de eliminación tras el suministro de exudados, a excepción del naproxeno, el cual no ha sufrido apenas variación. Sin embargo, se puede apreciar una gran diferencia de eliminación de los contaminantes entre el grupo formado por el benzotriazol y el diclofenaco, y el compuesto por el sulfametoxazol y la carbamazepina. Por un lado, tanto el benzotriazol como el diclofenaco han aumentado considerablemente su eliminación. Así, el benzotriazol ha incrementado la eficacia de eliminación desde $1 \pm 1\%$ hasta $65 \pm 8\%$ (aumento del 64%), mientras que el diclofenaco ha aumentado desde $12 \pm 5\%$ hasta $59 \pm 4\%$ (incremento del 47%). Por otro lado, el sulfametoxazol y la carbamazepina han aumentado su eliminación en menor medida, un 20% el sulfametoxazol (desde $8 \pm 3\%$ a $28 \pm 7\%$) y solamente un 10% la carbamazepina (desde $3 \pm 10\%$ hasta $13 \pm 6\%$).

Si se contrastan la combinación de los tres exudados y la dilución de los mismos, únicamente existe una diferencia significativa ($p < 0,05$) en la eficacia de eliminación del benzotriazol; $23 \pm 11\%$ sin diluir y $65 \pm 8\%$ tras la dilución.

4.3. Discusión

La adición de señales químicas procedentes de exudados radiculares en SSF con el fin de evaluar la eficiencia de eliminación de CE en aguas residuales es un proceso muy novedoso, ya que hasta ahora solo ha sido estudiado para la biorremediación de suelos contaminados ^[45]. Entre las diferentes tecnologías ya aplicadas al estudio de la degradación de CE en aguas residuales, los procesos naturales que involucran la vegetación de los humedales empiezan a adquirir importancia. Asimismo, es posible encontrar estudios acerca de la remoción en SSF.

Un estudio reciente llevado a cabo por Pritchard et al. (2018) ha analizado la eliminación de benzotriazol de aguas pluviales mediante el uso de biofiltros vegetales. En este trabajo los biofiltros con vegetación han reducido la concentración del contaminante en mayor medida que los no vegetales, consiguiendo así un valor de 97% y 95%, respectivamente ^[46]. En otro estudio realizado por Matamoros et al. (2010), se estudió la eficacia de los CW en la atenuación de benzotriazoles presentes en las aguas residuales. Los resultados obtenidos presentaron eliminaciones entre un 83 y 90% ^[47]. Dichas eliminaciones son ligeramente superiores a las conseguidas en este trabajo, ya que las condiciones de estudio con mayor eliminación ha sido la de la combinación de los tres exudados y diluida, con una eficiencia de eliminación de $65 \pm 8\%$.

Hijosa-Valsero et al. (2011) examinaron siete CW, tanto con vegetación como sin vegetación, para evaluar su eficiencia en la eliminación de antibióticos de las aguas residuales urbanas sin tratar. Todos los tipos de CW estudiados fueron eficientes para la eliminación del sulfametoxazol, ya que los valores oscilaron entre $59 \pm 30\%$ y $87 \pm 41\%$ ^[44]. En el caso de este trabajo, la eliminación de dicho contaminante ha variado notablemente en función del tratamiento realizado. Por ejemplo, la adición individual de los exudados ha conllevado una eliminación media de $67 \pm 9\%$ en el caso de la arginina, $72 \pm 4\%$ en cuanto a la glucosa y $51 \pm 9\%$ si se habla del ácido salicílico, mientras que las columnas de control han presentado una eliminación del $16 \pm 6\%$. Debe ser recalcado el hecho de que, una vez dejado de suministrar los exudados, la eliminación del contaminante ha bajado en los tres tratamientos. Asimismo, la adición de arginina y glucosa conjuntamente ha supuesto una degradación del $58 \pm 11\%$. Todos los valores mencionados se asemejan a los obtenidos por Hijosa-Valsero et al. (2011), por lo que se puede confirmar que la presencia de los exudados en el medio aumenta la eliminación del sulfametoxazol hasta valores similares a los obtenidos en CW ^[44].

Tal y como se ha mencionado anteriormente, la carbamazepina ha logrado las eficiencias de degradación más bajas. Las eliminaciones han oscilado entre $7 \pm 9\%$ y $15 \pm 7\%$, por lo que se puede concluir que la biodegradación no parece ser un proceso significativo en su eliminación. Dichos valores concuerdan con los obtenidos en otros trabajos como, por ejemplo, el estudio llevado a cabo por Matamoros et al. (2007), donde la eliminación conseguida en un CW fue de $20 \pm 4\%$ y de $8 \pm 15\%$ en un filtro de arena ^[39]. De igual manera, García-Rodríguez (2016) evaluó la eficacia de los procesos que se producen en los CW para eliminar CE de los efluentes de las EDAR mediante la evaluación de diferentes plantas acuáticas. La eliminación de la carbamazepina en el reactor de control fue de $19 \pm 12\%$, y la adición de algas (*Spirogyra sp.*) incrementó su eliminación, logrando valores de $31 \pm 5\%$ ^[14].

Matamoros et al. (2012) evaluaron la capacidad de cuatro plantas acuáticas de eliminar CE de aguas naturales mediante sistemas de humedales de microcosmos. En dicho estudio, el naproxeno fue uno de los contaminantes seleccionados y tras no encontrar grandes diferencias entre los sistemas plantados y sin plantar ^[48]. Asimismo, al igual que la carbamazepina, Matamoros et al. (2007) también compararon la eficacia de eliminación del naproxeno en un CW con la de un filtro de arena. Así, los resultados obtenidos fueron similares en ambos sistemas, con valores de $62 \pm 3\%$ en el caso del CW y $66 \pm 7\%$ si se trata del filtro de arena ^[39]. Por último, Boyd et al. (2005) llevaron a cabo un estudio donde analizaron los efectos del naproxeno y sus productos de cloración en los procesos de biopelícula. La concentración de

naproxeno en el efluente fue solamente 2% menor que el afluente durante el experimento, lo que indica que no hubo degradación de naproxeno en el interior del biorreactor ^[49].

La eliminación del diclofenaco ha sido evaluada anteriormente en otros sistemas de SSF. Por ejemplo, en el estudio llevado a cabo por Escola Casas y Bester (2015), donde se estudió la posibilidad de que los SSF puedan considerarse una solución para eliminar y degradar los microcontaminantes en los efluentes de aguas residuales de las pequeñas EDAR, el índice de remoción de diclofenaco fue del $42 \pm 2\%$ ^[31]. Este valor es similar a los obtenidos por otros sistemas de SSF. Matamoros et al. (2007) llevaron a cabo una comparación entre un CW con flujo subsuperficial vertical plantado y un filtro de arena, para evaluar la influencia de la vegetación en la degradación de PPCP. En este estudio, la eliminación conseguida en el CW fue de $53 \pm 2\%$, mientras que en el filtro de arena era de $39 \pm 22\%$ ^[39]. Por último, Scheytt et al. (2006) realizaron ensayos con columnas de arena en laboratorio para determinar la movilidad y el comportamiento de transporte de, entre otros compuestos, el diclofenaco y se obtuvo una eliminación del 35% ^[43]. Si estos valores son comparados con los obtenidos en este trabajo, se puede observar una gran similitud de eliminación. En el caso del sistema de control, el índice de eliminación medio obtenido ha sido de $33 \pm 12\%$. La adición de glucosa y arginina (tanto individualmente como combinados) no ha supuesto ninguna mejora en cuanto a eliminación del contaminante. Sin embargo, la adición de ácido salicílico, la mezcla de los tres exudados, así como la dilución 1:10 (v/v) de la misma, han mejorado el índice de degradación del diclofenaco, obteniendo así valores medios de $35 \pm 8\%$, $38 \pm 13\%$ y $59 \pm 4\%$, respectivamente. Aunque en el caso del ácido salicílico y de la combinación de los tres exudados la mejora no ha sido significativa en comparación con el control ($p > 0,05$), el aumento de remoción en el caso de la inyección diluido combinada (1:10) sí lo fue ($p > 0,05$), alcanzando valores muy similares a los conseguidos en el CW plantados con *Phragmites australis* ^[39].

Tal y como se ha comentado anteriormente, no existen estudios sobre la utilización de exudados con el fin de incrementar la eficacia de atenuación de CE en el tratamiento de aguas residuales mediante SSF. Sin embargo, estudios existentes en suelos y otros contaminantes orgánicos como hidrocarburos aromáticos policíclicos muestran incrementos en la degradación similares a los obtenidos en este trabajo. Por ejemplo, Lu et al. (2017) exploraron los exudados radiculares responsables de la rizodegradación acelerada del pireno. Los resultados mostraron que la glucosa aumentó la degradación del pireno ($54 \pm 2\%$), si se compara con los valores del control de $8 \pm 1\%$, de forma más significativa en comparación con los ácidos orgánicos ($46 \pm 3\%$) y la

serina ($43 \pm 1\%$). Así, la glucosa podría facilitar significativamente la eliminación del pireno en el suelo mediante la promoción de la actividad de la deshidrogenasa ^[45].

Como concluyeron Tian et al. (2017) tras estudiar los efectos de los exudados radiculares en la remediación de algunos HAP en esferas de gel y junco, la arginina, como portador activo de la absorción, puede mejorar la eliminación de dichos compuestos. Se realizaron diversas pruebas con diferentes concentraciones de arginina y los resultados mostraron que la eliminación del pireno aumentó significativamente con el incremento de la arginina ^[50]. Por último, el objetivo del estudio llevado a cabo por Rostami et al. (2019) fue investigar el efecto del ácido salicílico y los hongos micorrícicos sobre la capacidad de crecimiento y fitorremediación de la planta *Festuca arundinacea* en un suelo contaminado por fluoranteno. Según los resultados, el ácido salicílico, tanto solo como en combinación con los hongos micorrícicos, tiene un efecto significativo sobre la mejora del potencial de fitorremediación ^[51].

5. Conclusiones

En este trabajo se ha analizado el efecto, tanto individual como combinado, de tres exudados (arginina, glucosa y ácido salicílico) para aumentar la eficiencia de degradación de cinco contaminantes emergentes (benzotriazol, sulfametoxazol, carbamazepina, naproxeno y diclofenaco) en aguas residuales. En general, los resultados del estudio muestran que la presencia de los exudados en el sistema incrementa la eficiencia de eliminación de los contaminantes estudiados. Asimismo, los valores obtenidos se asemejan a los conseguidos en diversos estudios acerca de la degradación de contaminantes emergentes mediante humedales construidos. Las conclusiones específicas han sido las siguientes:

- La arginina ha supuesto la mayor tasa de eliminación en el benzotriazol (49%). Por otro lado, la combinación y dilución de los exudados ha conllevado el incremento máximo de degradación, con un 65%.
- Las eliminaciones máximas de sulfametoxazol obtenidas en este trabajo han sido gracias al efecto de la glucosa (86%) y la arginina (71%). Asimismo, la combinación de estos dos exudados ha incrementado la eficiencia de degradación hasta un 58%.
- Los exudados no han afectado a la eficiencia de eliminación de la carbamazepina, con eliminaciones entre 7 y 15%.
- La presencia de exudados han disminuido de manera significativa la eficiencia de eliminación del naproxeno, en comparación con el control.
- La eficiencia de eliminación del diclofenaco ha obtenido valores máximos tras la adición de ácido salicílico (43%). Asimismo, la combinación y dilución de los exudados ha conllevado un aumento máximo de eliminación de 59%.
- Las eficiencias de eliminación conseguidas gracias a la presencia de exudados son similares a aquellas obtenidas en humedales construidos, y superiores a las observadas en filtros de arena.

6. Recomendaciones / trabajos futuros

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en este trabajo, se puede concluir que la adición de señales químicas proveniente de exudados radiculares en sistemas de filtración con arena es un proceso efectivo para la eliminación de contaminantes emergentes de las aguas residuales. Al tratarse de una nueva tecnología, resultaría interesante profundizar en el estudio de la adición de exudados al medio acuoso con el fin de incrementar la eliminación de los contaminantes emergentes, ya que en la actualidad esta estrategia está más enfocada a la biorremediación de suelos contaminados.

Asimismo, este estudio se ha centrado exclusivamente en cinco de los contaminantes emergentes más abundantes, así como en tres de los exudados radiculares más comunes. Por lo tanto, sería aconsejable estudiar el efecto de otros exudados ya que, como bien se ha visto, los resultados pueden variar significativamente de unos a otros.

Por último, vista la evolución de los resultados obtenidos, sería recomendable, a nivel específico de este trabajo, efectuar mayores diluciones (1:100) de la combinación de exudados. Además, los trabajos futuros requerirían la evaluación del efecto de los exudados en agua residual real, evaluar concentraciones de contaminantes emergentes más bajas y hacer un seguimiento de la presencia de productos de transformación.

7. Bibliografía

- [1] Programa Mundial de Evaluación de los Recursos Hídricos de las Naciones Unidas (WWAP). (2016). Informe de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos en el Mundo 2016: Agua y Empleo. Informe de las Naciones Unidas sobre el desarrollo de los recursos hídricos en el mundo 2016.
- [2] Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2012). Peatlands - guidance for climate change mitigation through conservation, rehabilitation and sustainable use. Mitigation of Climate Change in Agriculture (MICCA) Programme series 5.
- [3] International Institute for Applied Systems Analysis (IIASA). (2016). Water Futures and Solution - Fast Track Initiative (Final Report).
- [4] Ávila, C. (2013). Effect of design and operational factors on the removal efficiency of emerging organic contaminants in constructed wetlands for wastewater treatment.
- [5] Gorito, A. M., Ribeiro, A. R., Almeida, C. M. R., & Silva, A. M. T. (2017). A review on the application of constructed wetlands for the removal of priority substances and contaminants of emerging concern listed in recently launched EU legislation. *Environmental Pollution*, 227, 428–443.
- [6] Network of reference laboratories research centres and related organisations for monitoring of emerging environmental substances. (n.d.). Emerging substances. Retrieved from <https://www.norman-network.net/?q=node/19>
- [7] Zhang, Y., Geißen, S. U., & Gal, C. (2008). Carbamazepine and diclofenac: Removal in wastewater treatment plants and occurrence in water bodies. *Chemosphere*, 73, 1151–1161.
- [8] Geissen, V., Mol, H., Klumpp, E., Umlauf, G., Nadal, M., van der Ploeg, M., ... Ritsema, C. J. (2015). Emerging pollutants in the environment: A challenge for water resource management. *International Soil and Water Conservation Research*, 3, 57–65.
- [9] Fent, K., Weston, A. A., & Caminada, D. (2006). Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquatic Toxicology*, 76, 122–159.
- [10] Enick, O. V., & Moore, M. M. (2007). Assessing the assessments: Pharmaceuticals in the environment. *Environmental Impact Assessment Review*, 27, 707–729.

- [11] Christen, V., Hickmann, S., Rechenberg, B., & Fent, K. (2010). Highly active human pharmaceuticals in aquatic systems: A concept for their identification based on their mode of action. *Aquatic Toxicology*, 96, 167–181.
- [12] Miyata, K., & Ose, K. (2012). Thyroid Hormone-disrupting Effects and the Amphibian Metamorphosis Assay. *Journal of Toxicologic Pathology*, 25, 1–9.
- [13] Kidd, K. A., Blanchfield, P. J., Mills, K. H., Palace, V. P., Evans, R. E., Lazorchak, J. M., & Flick, R. W. (2007). Collapse of a fish population after exposure to a synthetic estrogen. *Environmental Sciences*, 104, 8897–8901.
- [14] Garcia-Rodríguez, A. (2016). Assessment of wastewater phytotechnologies for the attenuation of emerging organic contaminants and development of innovative analytical methods for their determination.
- [15] Weiss, S., & Reemtsma, T. (2005). Determination of Benzotriazol Corrosion Inhibitors from Aqueous Environmental Samples by Liquid Chromatography-Electrospray Ionization-Tandem Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*, 77, 7415–7420.
- [16] Weiss, Stefan; Jakobs, Jutta; Reemtsma, T. (2006). Discharge of Three Benzotriazol Corrosion Inhibitors with Municipal Wastewater and Improvements by Membrane Bioreactor Treatment and *Environmental Science and Technology*, 40, 7193–7199.
- [17] Rhodes-Dicker, L., & Passeport, E. (2019). Effects of cold-climate environmental factors temperature and salinity on benzotriazol adsorption and desorption in bioretention cells. *Ecological Engineering*, 127, 58–65.
- [18] Gatidou, G., Anastopoulou, P., Aloupi, M., & Stasinakis, A. S. (2019). Growth inhibition and fate of benzotriazols in *Chlorella sorokiniana* cultures. *Science of the Total Environment*, 663, 580–586.
- [19] Martínez-Costa, J.I., *Catalysis Today* (2018), <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2018.07.021>
- [20] Marco-Urrea, E., Pérez-Trujillo, M., Blánquez, P., Vicent, T., & Caminal, G. (2010). Biodegradation of the analgesic naproxen by *Trametes versicolor* and identification of intermediates using HPLC-DAD-MS and NMR. *Bioresource Technology*, 101, 2159–2166.

- [21] Ding, T., Lin, K., Yang, B., Yang, M., Li, J., Li, W., & Gan, J. (2017). Biodegradation of naproxen by freshwater algae *Cymbella* sp. and *Scenedesmus quadricauda* and the comparative toxicity. *Bioresource Technology*, 238, 164–173.
- [22] Isidori, M., Lavorgna, M., Nardelli, A., Parrella, A., Previtera, L., & Rubino, M. (2005). Ecotoxicity of naproxen and its phototransformation products. *Science of the Total Environment*, 348, 93–101.
- [23] Zhuan, R., & Wang, J. (2019). Degradation of sulfamethoxazole by ionizing radiation: Kinetics and implications of additives. *Science of the Total Environment*, 668, 67–73.
- [24] Liang, Y., Zhu, H., Bañuelos, G., Shutes, B., Yan, B., & Cheng, X. (2018). Removal of sulfamethoxazole from salt-laden wastewater in constructed wetlands affected by plant species, salinity levels and co-existing contaminants. *Chemical Engineering Journal*, 341, 462–470.
- [25] López M. & Barceló D. (n.d.) Fate and behaviour of organic contaminants in the aquatic environment. CSIC. Barcelona, España.
- [26] European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals. (n.d.). Log Dow. Retrieved from <http://www.ecetoc.org/report/estimated-partitioning-property-data/computational-methods/logdow/>
- [27] Zhang, D., Gersberg, R. M., Ng, W. J., & Tan, S. K. (2014). Removal of pharmaceuticals and personal care products in aquatic plant-based systems: A review. *Environmental Pollution*, 184, 620–639.
- [28] Wells, M.J.M., (2006). Log Dow: Key to understanding and regulating wastewater-derived contaminants. *Environmental Chemistry* 3, 439-449.
- [29] National Center for Biotechnology Information. (n.d.). PubChem. Retrieved from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
- [30] Geissen, V., Mol, H., Klumpp, E., Umlauf, G., Nadal, M., van der Ploeg, M., ... Ritsema, C. J. (2015). Emerging pollutants in the environment: A challenge for water resource management. *International Soil and Water Conservation Research*, 3, 57–65.
- [31] Escolà Casas, M., & Bester, K. (2015). Can those organic micro-pollutants that are recalcitrant in activated sludge treatment be removed from wastewater by biofilm reactors (slow sand filters)? *Science of the Total Environment*, 506–507, 315–322.

- [32] United States Environmental Protection Agency (EPA). (n.d.). Constructed Treatment Wetlands. Retrieved from <https://nepis.epa.gov/Exe/ZyPDF.cgi/30005UPS.PDF?Dockey=30005UPS.PDF>
- [33] Badri, D. V., & Vivanco, J. M. (2009). Regulation and function of root exudates. *Plant, Cell and Environment*, 32, 666–681.
- [34] Kuzyakov, Y., & Jones, D. L. (2006). Glucose uptake by maize roots and its transformation in the rhizosphere. *Soil Biology and Biochemistry*, 38, 851–860.
- [35] Gao, Y., Ren, L., Ling, W., Gong, S., Sun, B., & Zhang, Y. (2010). Desorption of phenanthrene and pyrene in soils by root exudates. *Bioresource Technology*, 101, 1159–1165.
- [36] Campos, L. C., Su, M. F. J., Graham, N. J. D., & Smith, S. R. (2002). Biomass development in slow sand filters. *Water Research*, 36, 4543–4551.
- [37] Bester, K., & Schäfer, D. (2009). Activated soil filters (bio filters) for the elimination of xenobiotics (micro-pollutants) from storm- and waste waters. *Water Research*, 43, 2639–2646.
- [38] Bester, K., Banzhaf, S., Burkhardt, M., Janzen, N., Niederstrasser, B., & Scheytt, T. (2011). Activated soil filters for removal of biocides from contaminated run-off and waste-waters. *Chemosphere*, 85, 1233–1240.
- [39] Matamoros, V., Arias, C., Brix, H., & Bayona, J. M. (2007). Removal of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) from urban wastewater in a pilot vertical flow constructed wetland and a sand filter. *Environmental Science and Technology*, 41, 8171–8177.
- [40] Pompei, C. M. E., Ciric, L., Canales, M., Karu, K., Vieira, E. M., & Campos, L. C. (2017). Influence of PPCPs on the performance of intermittently operated slow sand filters for household water purification. *Science of the Total Environment*, 581–582, 174–185.
- [41] de-Bashan, L. E., Trejo, A., Huss, V. A. R., Hernandez, J. P., & Bashan, Y. (2008). *Chlorella sorokiniana* UTEX 2805, a heat and intense, sunlight-tolerant microalga with potential for removing ammonium from wastewater. *Bioresource Technology*, 99, 4980–4989.
- [42] Benner, J., Helbling, D. E., Kohler, H. P. E., Wittebol, J., Kaiser, E., Prasse, C., ... Boon, N. (2013). Is biological treatment a viable alternative for micropollutant removal in drinking water treatment processes? *Water Research*, 47, 5955–5976.

- [43] Scheytt, T. J., Mersmann, P., & Heberer, T. (2006). Mobility of pharmaceuticals carbamazepine, diclofenac, ibuprofen, and propyphenazone in miscible-displacement experiments. *Journal of Contaminant Hydrology*, 83, 53–69.
- [44] Hijosa-Valsero, M., Fink, G., Schlüsener, M. P., Sidrach-cardona, R., Martín-villacorta, J., Ternes, T., & Bécares, E. (2011). Removal of antibiotics from urban wastewater by constructed wetland optimization. *Chemosphere*, 83, 713–719.
- [45] Lu, H., Sun, J., & Zhu, L. (2017). The role of artificial root exudate components in facilitating the degradation of pyrene in soil. *Scientific Reports*, 7, 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-07413-3>
- [46] Pritchard, J.C.; Cho, Y.-M.; Ashoori, N.; Wolfand, J.M.; Sutton, J.D.; Carolan, M.E.; Gamez, E.; Doan, K.; Wiley, J.S.; Luthy, R.G. Benzotriazole Uptake and Removal in Vegetated Biofilter Mesocosms Planted with *Carex praegracilis*. *Water* 2018, 10, 1605.
- [47] Matamoros, Victor & Jover, Eric & Bayona, Josep. (2010). Occurrence and fate of benzothiazoles and benzotriazoles in constructed wetlands. *Water Science and Technology*, 61, 191-8.
- [48] Matamoros, V., Nguyen, L. X., Arias, C. A., Salvadó, V., & Brix, H. (2012). Evaluation of aquatic plants for removing polar microcontaminants: A microcosm experiment. *Chemosphere*, 88, 1257–1264.
- [49] Boyd, G. R., Zhang, S., & Grimm, D. A. (2005). Naproxen removal from water by chlorination and biofilm processes. *Water Research*, 39, 668–676.
- [50] Tian, W., Zhao, J., Zhou, Y., Qiao, K., Jin, X., & Liu, Q. (2017). Effects of root exudates on gel-beads/reeds combination remediation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 135, 158–164.
- [51] Rostami, M., & Rostami, S. (2019). Effect of salicylic acid and mycorrhizal symbiosis on improvement of fluoranthene phytoremediation using tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb). *Chemosphere*, 232, 70–75.

Anexo

1. Eliminación de los contaminantes emergentes tras la adición de exudados individuales

BENZOTRIAZOL				
t (días)	Control	Arginina	Glucosa	Ácido salicílico
0	13 ± 5	1 ± 0	1 ± 2	3 ± 12
5	4 ± 5	49 ± 1	19 ± 2	13 ± 5
10	23 ± 9	51 ± 2	24 ± 9	37 ± 6
12	14 ± 5	47 ± 5	22 ± 1	16 ± 5
14	6 ± 6	50 ± 6	15 ± 5	19 ± 8
17	21 ± 6	51 ± 7	24 ± 1	31 ± 2
19	25 ± 13	43 ± 1	21 ± 6	22 ± 7
21	17 ± 9	24 ± 7	26 ± 7	25 ± 7
25	14 ± 7	13 ± 12	36 ± 2	22 ± 10
28	4 ± 6	14 ± 11	29 ± 7	1 ± 0

SULFAMETOXAZOL				
t (días)	Control	Arginina	Glucosa	Ácido salicílico
0	1 ± 3	1 ± 8	3 ± 2	5 ± 10
5	10 ± 5	55 ± 12	30 ± 1	29 ± 4
10	17 ± 4	75 ± 14	85 ± 4	61 ± 14
12	15 ± 4	65 ± 6	82 ± 5	55 ± 5
14	7 ± 3	73 ± 6	91 ± 5	58 ± 12
17	27 ± 5	38 ± 10	40 ± 6	20 ± 3
19	14 ± 9	28 ± 8	9 ± 8	18 ± 12
21	21 ± 2	11 ± 13	25 ± 9	14 ± 7
25	24 ± 5	18 ± 11	21 ± 10	15 ± 2
28	14 ± 9	10 ± 3	7 ± 16	8 ± 3

CARBAMAZEPINA			
t (días)	Control	Arginina	Glucosa
0	1 ± 3	3 ± 3	3 ± 1
5	14 ± 4	9 ± 8	18 ± 1
10	13 ± 5	7 ± 8	21 ± 2
12	6 ± 4	7 ± 6	16 ± 5
14	8 ± 11	8 ± 7	14 ± 3
17	10 ± 3	12 ± 10	17 ± 10
19	7 ± 9	16 ± 1	13 ± 7
21	9 ± 7	18 ± 12	13 ± 11
25	10 ± 4	13 ± 1	19 ± 10
28	7 ± 4	6 ± 5	3 ± 10

NAPROXENO				
t (días)	Control	Arginina	Glucosa	Ácido salicílico
0	79 ± 22	95 ± 6	86 ± 15	92 ± 5
5	82 ± 7	84 ± 14	80 ± 11	42 ± 8
10	91 ± 7	44 ± 7	36 ± 0	30 ± 4
12	92 ± 2	40 ± 2	34 ± 19	21 ± 8
14	90 ± 4	32 ± 10	54 ± 8	10 ± 7
17	83 ± 14	88 ± 0	57 ± 24	30 ± 18
19	73 ± 5	82 ± 7	65 ± 10	39 ± 8
21	92 ± 6	94 ± 7	95 ± 2	74 ± 3
25	95 ± 4	85 ± 11	94 ± 3	59 ± 10
28	61 ± 15	72 ± 22	76 ± 13	70 ± 16

DICLOFENACO				
t (días)	Control	Arginina	Glucosa	Ácido salicílico
0	10 ± 7	11 ± 2	9 ± 10	11 ± 12
5	28 ± 5	5 ± 2	27 ± 1	56 ± 4
10	16 ± 13	4 ± 6	30 ± 21	70 ± 7
12	19 ± 12	4 ± 12	28 ± 9	71 ± 11
14	40 ± 16	4 ± 4	28 ± 2	48 ± 8
17	37 ± 10	34 ± 1	27 ± 1	11 ± 8
19	37 ± 16	35 ± 3	17 ± 12	18 ± 8
21	45 ± 11	31 ± 1	14 ± 9	18 ± 5
25	33 ± 13	19 ± 3	16 ± 16	17 ± 6
28	47 ± 12	33 ± 9	17 ± 26	12 ± 5

2. Eliminación de los contaminantes emergentes tras la adición combinada de exudados

BENZOTRIAZOL				
t (días)	Control	Arginina - Glucosa	Arginina - Glucosa - Ácido salicílico	Arginina - Glucosa - Ácido salicílico (1:10)
0	4 ± 6	14 ± 11	29 ± 7	1 ± 0
3	13 ± 12	9 ± 6	12 ± 6	69 ± 1
5	8 ± 7	13 ± 17	27 ± 8	55 ± 5
7	9 ± 8	7 ± 4	31 ± 18	69 ± 17

SULFAMETOXAZOL				
t (días)	Control	Arginina - Glucosa	Arginina - Glucosa - Ácido salicílico	Arginina - Glucosa - Ácido salicílico (1:10)
0	14 ± 9	10 ± 3	7 ± 16	8 ± 3
3	19 ± 12	53 ± 12	19 ± 2	18 ± 6
5	28 ± 8	60 ± 7	41 ± 12	36 ± 6
7	14 ± 9	60 ± 14	39 ± 8	31 ± 8

CARBAMAZEPINA				
t (días)	Control	Arginina - Glucosa	Arginina - Glucosa - Ácido salicílico	
0	7 ± 4	6 ± 5	3 ± 10	
3	3 ± 8	10 ± 11	15 ± 5	
5	6 ± 6	9 ± 5	19 ± 9	
7	5 ± 9	3 ± 10	6 ± 2	

NAPROXENO				
t (días)	Control	Arginina - Glucosa	Arginina - Glucosa - Ácido salicílico	Arginina - Glucosa - Ácido salicílico (1:10)
0	61 ± 15	72 ± 22	76 ± 13	70 ± 16
3	57 ± 17	14 ± 13	33 ± 16	68 ± 7
5	53 ± 7	24 ± 8	20 ± 9	55 ± 19
7	49 ± 4	10 ± 4	28 ± 9	68 ± 17

DICLOFENACO				
t (días)	Control	Arginina - Glucosa	Arginina - Glucosa - Ácido salicílico	Arginina - Glucosa - Ácido salicílico (1:10)
0	47 ± 12	33 ± 9	17 ± 26	12 ± 5
3	42 ± 16	19 ± 1	43 ± 20	59 ± 3
5	50 ± 1	12 ± 10	34 ± 8	52 ± 4
7	39 ± 4	21 ± 6	37 ± 12	65 ± 6